

ФГОУ ВПО «Санкт-Петербургский государственный университет»

Медицинский факультет

Кафедра госпитальной хирургии

Допускается к защите

Заведующий кафедрой

*Яблонский П. К.*

« » \_\_\_\_\_

## ДИПЛОМНАЯ РАБОТА

НА ТЕМУ: Факторы, влияющие на прогноз пациентов, оперированных по  
поводу немелкоклеточного рака легкого I-II стадии

Выполнила:

студентка 608 группы

*Жемчугова Ольга Александровна*

Научный руководитель:

*к. м. н., доц. Петров Андрей Сергеевич*

Санкт-Петербург  
2020 год

## Список используемых сокращений

НМРЛ – немелкоклеточный рак легкого	PD-1 - programmed cell death
КТ – компьютерная томография	PD-L1 – programmed cell death ligand
МРТ – магнитно-резонансная томография	CD8 – cluster of differentiation 8
ПЭТ – позитронно-эмиссионная томография	CD44 – cluster of differentiation 44
ЭКГ – электрокардиография	ALDH – Aldehyde dehydrogenase
ЭХО-КГ – эхокардиография	НЛИ – нейтрофильно-лимфоцитарный индекс
УЗИ – ультразвуковое исследование	ТЛИ – тромбоцитарно-лимфоцитарный индекс
РФП – радиофармакологический препарат	ИСВ – индекс системного воспаления
SUV – standard uptake value	CCI – Charlson Comorbidity Index

## **Оглавление**

<b>Введение .....</b>	<b>4</b>
<b>Глава 1. Потенциальные факторы прогноза пациентов с НМРЛ I-II стадии.....</b>	<b>7</b>
1.1. Гистологический тип опухоли и клинико-анатомическая форма рака.....	8
1.2. Индекс коморбидности Чарльсон. ....	9
1.3. Пол и возраст.....	10
1.4. Индексы воспаления.....	11
1.5. Уровень SUV первичной опухоли в легком. ....	13
1.6. PD-L1 на опухолевых клетках .....	14
1.7 Опухоль-инфильтрирующие лимфоциты. ....	15
<b>Глава 2. Материал и методы .....</b>	<b>19</b>
2.1. Характеристика больных .....	19
2.2. Методы обследования пациентов и варианты хирургического лечения.....	21
2.3. Методика определения клинических, патоморфологических и иммуногистохимических маркеров. ....	23
2.4. Статистический анализ.....	25
<b>Глава 3. Отдаленные результаты хирургического лечения больных НМРЛ I-II стадии.....</b>	<b>26</b>
<b>Заключение .....</b>	<b>38</b>
<b>Выводы .....</b>	<b>43</b>
<b>Список литературы.....</b>	<b>44</b>

## **Введение**

### **Актуальность исследования**

Рак легкого является наиболее распространенным типом рака во всем мире [1]. Выделяют два основных гистологических варианта эпителиальных злокачественных опухолей легких – немелкоклеточный рак легкого (НМРЛ), на который приходится 85% всех случаев, и мелкоклеточный рак легкого [1]. За 2018, согласно всемирной статистике, выявлено 2,1 млн заболевших и 1,8 млн умерших от немелкоклеточного рака легкого [2].

В России рак легкого, которым ежегодно заболевают около 52 тыс. человек, занимает третье место в структуре заболеваемости злокачественными новообразованиями и первое – в структуре смертности [3]. Приблизительно 50% пациентов умирают в первый год после установления диагноза рак легкого, у 70% больных заболевание диагностируется на поздних стадиях [4].

Алгоритм лечения пациентов с НМРЛ включает в себя методы локального и системного воздействия, однако, несмотря на прогресс, достигнутый в хирургии, радиотерапии и лекарственном лечении за последнее десятилетие, показатели 5-ти летней выживаемости даже для пациентов с НМРЛ I-II стадии остаются низкими (61%) [1], что требует как поиска новых методов лечения, так и изучения и разработки точных и надежных факторов прогноза заболевания, позволяющих своевременно определять оптимальную тактику для конкретного пациента с НМРЛ.

В настоящее время прогноз пациентов с раком легкого определяется на основании классификации TNM. Стадия опухоли также диктует и оптимальную тактику лечения, так, при I-II стадии НМРЛ методом выбора является хирургическое вмешательство в объеме анатомической резекции легкого и медиастинальной лимфодиссекции [5-7]. Несмотря на детальную проработку 8 издания классификации TNM, пациенты, оперированные по поводу ранней стадии НМРЛ имеют разные отдаленные результаты, что

проявляется, в том числе, ранним прогрессирование опухоли после радикальной операции у некоторых пациентов [8]. Несовершенство современной классификации связано как с недостатком включенных в нее диагностических критериев, так и возможностью диагностических ошибок [9,10]. Многие авторы сходятся во мнении, что для более точного определения прогноза у пациентов, оперированных по поводу рака легкого, следует использовать не только классификацию TNM, но и другие критерии.

В качестве прогностических факторов неоднократно предлагались такие неспецифические признаки как гистологический тип опухоли, клиничко-анатомическая форма рака, пол, возраст и наличие сопутствующей патологии [11-13].

Вместе с тем, в последнее время в литературе активно обсуждаются прогностические факторы, которые в той или иной степени отражают биологическую агрессивность опухоли, учитывают механизмы противоопухолевого иммунитета и концепцию опухолевых стволовых клеток. К подобным критериям относят уровень SUV первичной опухоли в легком по данным ПЭТ-КТ, показатели системного воспаления в периферической крови (нейтрофильно-лимфоцитарный индекс (НЛИ), тромбоцитарно-лимфоцитарный индекс (ТЛИ), индекс системного воспаления (ИСВ), экспрессию опухолевыми клетками PD-L1, наличие инфильтрирующих опухоль CD-8 лимфоцитов, маркеры опухолевых стволовых клеток CD44 и ALDH [14-19].

Исследования о влиянии вышеперечисленных факторов на прогноз пациентов с НМРЛ I-II стадии противоречивы или недостаточны, и этот вопрос требует более детального изучения.

Данная работа представляет собой исследование влияния клинических, рентгенологических, патоморфологических, иммуногистохимических и биологических особенностей опухоли на прогноз пациентов, прооперированных по поводу немелкоклеточного рака легкого I-II стадии.

### **Цель исследования**

Улучшить отдаленные результаты хирургического лечения больных немелкоклеточным раком легкого I-II стадии.

### **Задачи исследования:**

1. Оценить общую выживаемость пациентов с НМРЛ I-II стадии после хирургического лечения.
2. Выявить влияние маркеров системного воспаления периферической крови на предоперационном этапе на 5-летнюю выживаемость пациентов с I-II стадией НМРЛ.
3. Изучить взаимосвязь клинико-рентгенологических данных и отдаленных результатов хирургического лечения пациентов.
4. Определить роль патоморфологических, иммуногистохимических и биологических особенностей НМРЛ в прогнозе заболевания.
5. На основании полученных данных с использованием регрессионного анализа выявить прогностические факторы, влияющие на отдаленные результаты хирургического лечения пациентов с НМРЛ I-II стадии.

## **Глава 1. Потенциальные факторы прогноза пациентов с НМРЛ I-II стадии.**

Первая классификация рака легкого по системе TNM была введена международным союзом по борьбе с раком (Union Internationale Contre le Cancer- UICC) в 1966 году для анатомического описания степени распространения опухолевого процесса [20]. Вскоре после этого, в 1973 году Американский объединенный комитет по раку (American Joint Committee on Cancer- AJCC) предложил доработанную классификацию TNM, включающую стадии, выделенные на основании отдаленных результатов выживаемости пациентов с НМРЛ [21]. В настоящий момент классификация UICC / AJCC TNM используется для постановки стадии большинства онкологических заболеваний. Показатель «Т» описывает распространение первичной опухоли, «N» отражает степень поражения лимфатических узлов, а показатель «M» определяет наличие отдаленных метастазов [8].

Кроме того, классификация TNM является наиболее обоснованным фактором прогноза заболевания, который имеется на сегодняшний день. Несмотря на то, что данная классификация не включает клинические, биологические, молекулярные, патоморфологические или генетические факторы, они могут использоваться совместно для построения прогностических групп пациентов[22]. Классификация НМРЛ по системе TNM (8-е издание, 2017 г.) представлена в таблице 1.

Таблица 1.

### **Классификация НМРЛ по системе TNM[8]**

<b>Стадия</b>	<b>T</b>	<b>N</b>	<b>M</b>
<b>0</b>	Tis	N0	M0
<b>IA</b>	T1	N0	M0
<b>IA1</b>	T1mi T1a	N0	M0
<b>IA2</b>	T1b	N0	M0
<b>IA3</b>	T1c	N0	M0
<b>IB</b>	T2a	N0	M0

<b>IIA</b>	T2b	N0	M0
<b>IIB</b>	T1a-c, 2a, b T3	N1 N0	M0 M0
<b>IIIA</b>	T1a-c, 2a, b T3 T4	N2 N1 N0–1	M0 M0 M0
<b>IIIB</b>	T1a-c, 2a, b T3, T4	N3 N2	M0 M0
<b>IIIC</b>	T3, T4	N3	M0
<b>IV</b>	Любое T	Любое N	M1
<b>IVA</b>	Любое T	Любое N	M1a, M1b
<b>IVB</b>	Любое T	Любое N	M1c

### 1.1. Гистологический тип опухоли и клинико-анатомическая форма рака

К основным гистологическим подтипам НМРЛ по современной классификации ВОЗ 2015 года относят: аденокарциному, плоскоклеточный рак, нейроэндокринные опухоли и крупноклеточную карциному [23]. Согласно мировой статистике аденокарцинома является наиболее распространенным типом НМРЛ, и на ее долю приходится около 50% всех случаев НМРЛ. Плоскоклеточный рак в настоящее время является вторым по распространенности в мире [24]. В Европе и России же в настоящее время превалирует плоскоклеточный вариант опухоли (54%) [25]. Многие авторы определяют гистологический тип опухоли в качестве фактора прогноза пациентов с немелкоклеточным раком легкого I-II стадии, причем одна часть из них считают, что неблагоприятным прогностическим фактором является плоскоклеточный рак [26,27], другие же авторы относят к таковому аденокарциному [28-30].

Существуют две основные клинико-анатомические формы рака легкого: центральный и периферический. Центральный рак легкого возникает в бронхах (главном, промежуточном, долевым, сегментарном и субсегментарном). А периферический рак исходит из эпителия более мелких бронхов или локализуется в паренхиме легкого. Большинство исследователей считают, что центральное расположение опухоли ассоциировано с высокой



частотой вовлечения лимфатических узлов и плохим прогнозом [31-33], однако существуют и противоположные мнения [34].

### **1.2. Индекс коморбидности Чарльсон.**

Для оценки сопутствующей патологии пациентов, оперированных по поводу НМРЛ, может использоваться индекс коморбидности Чарльсон (Charlson Comorbidity Index-CCI) [35], представляющий собой балльную систему оценки определенных сопутствующих заболеваний (табл. 2), а также учитывающий возраст пациента (добавляется один балл на каждую декаду жизни при превышении пациентом 40 лет).

Таблица 2.

#### **Балльная оценка наличия сопутствующих заболеваний при расчете индекса коморбидности Чарльсон**

<b>Балл</b>	<b>Сопутствующие заболевания</b>
<b>1</b>	Инфаркт миокарда
<b>1</b>	Сердечная недостаточность
<b>1</b>	Поражение периферических сосудов
<b>1</b>	Переходящее нарушение мозгового кровообращения
<b>1</b>	Острое нарушение мозгового кровообращения с минимальными остаточными явлениями
<b>1</b>	Деменция
<b>1</b>	Хронические неспецифические заболевания легких
<b>1</b>	Бронхиальная астма
<b>1</b>	Болезни соединительной ткани
<b>1</b>	Язвенная болезнь желудка и/или двенадцатиперстной кишки
<b>1</b>	Цирроз печени без портальной гипертензии
<b>1</b>	Сахарный диабет без конечностно-органных поражений

2	Острое нарушение мозгового кровообращения с гемиплегией и параплегией
2	Хроническая болезнь почек
2	Сахарный диабет с конечностно-органными поражениям
2	Злокачественные опухоли без метастазов
2	Острый и хронический лимфо- и миелолейкоз
2	Лимфомы
3	Цирроз печени с портальной гипертензией
3	Злокачественные опухоли с метастазами
3	Синдром приобретенного иммунодефицита

Было доказано, что сопутствующие заболевания, выявленные на момент постановки диагноза, снижают показатели выживаемости, а высокие значения индекса коморбидности Чарльсон коррелируют с худшим прогнозом пациентов с НМРЛ I-II стадии [36]. Однако четкое пороговое значение индекса не определено: Rosen JE и соавторы признали неблагоприятным фактором прогноза значение индекса больше 3 [37], MoroSibilot D. и др. – больше 2 [38], и Birim Ö. И соавт. – более 4 [39].

### 1.3. Пол и возраст.

Считается, что рак легкого встречается чаще у пожилых людей, средний возраст при постановке диагноза составляет 68 лет, при этом треть пациентов - старше 70 лет [40]. Однако достоверно не известно, является ли возраст фактором прогноза пациентов с немелкоклеточным раком легкого. Существует множество работ, посвященных исследованию влиянию возраста пациентов на отдаленные результаты хирургического лечения НМРЛ, однако в этих публикациях использовано разное деление на возрастные подгруппы, и соответственно, получены неоднозначные и противоречивые результаты [41-45]. Так, например, в небольшом исследовании пациентов в возрасте до 40 лет Rocha M. и соавт. пришли к выводу, что более молодые пациенты имеют

тенденцию к раннему прогрессированию заболевания, что приводит к крайне низким показателям выживаемости [46]. В другом исследовании, сравнивающим прогноз пациентов с НМРЛ в возрасте младше и старше 45 лет, авторы пришли к выводу, что выживаемость не различается у молодых и пожилых пациентов [47]. Тем не менее, большинство исследователей выявили лучшую выживаемость в молодых когортах пациентов [48-53].

Возраст до 50 лет рассматривается как независимый фактор благоприятного прогноза для пациентов без существенной сопутствующей патологии [53]. Так, например, исследование результатов лечения японских пациентов с раком легкого с 1958 по 2003 год и анализ SEER пациентов с раком легкого в возрасте старше и моложе 50-ти лет показали более низкие показатели смертности среди молодых пациентов [54,55].

Кроме возраста, многие исследователи в качестве неблагоприятного прогностического фактора приводят еще и пол, однако данные литературы неоднозначны. Часть исследователей называет женский пол отрицательным фактором прогноза [56-59], другие оспаривают это утверждение [60,61].

#### **1.4. Индексы воспаления.**

В последние несколько лет многие авторы описывают прогностическую ценность маркеров периферической крови, ассоциированных с системным воспалением у пациентов со злокачественными опухолями. Наиболее интересными для изучения представляются такие показатели, как отношение нейтрофилов к лимфоцитам (нейтрофильно-лимфоцитарный индекс - НЛИ), тромбоцитов к лимфоцитам (тромбоцитарно-лимфоцитарный индекс) и отношение произведения нейтрофилов и тромбоцитов к лимфоцитам (индекс системного воспаления – ИСВ). Для опухолей многих локализаций высокое значение индексов воспаления достоверно коррелирует с низкой выживаемостью пациентов [62,63]. Однако для рака легкого такая закономерность пока окончательно не определена.

#### ***А) Нейтрофильно-лимфоцитарный индекс.***

Нейтрофилы играют важную роль в патогенезе онкологического заболевания. Нейтрофилы могут активировать как эндотелиальные, так и паренхимные клетки для усиления адгезии циркулирующих опухолевых клеток, способствуя отдаленному метастазированию [64]. Циркулирующий эндотелиальный фактор роста сосудов, содержащийся в нейтрофилах необходим для ангиогенеза опухоли [65]. Лимфоциты являются важнейшими компонентами иммунной системы, они могут подавлять пролиферацию и миграцию опухолевых клеток, секретируя фактор некроза опухоли- $\alpha$  и интерферон- $\gamma$  [66, 67].

В нескольких исследованиях оценивалась прогностическая значимость НЛИ у пациентов с НМРЛ I-II стадии, в том числе у пациентов до хирургического лечения, однако результаты противоречивы [68-72]. Согласно мета-анализу Gu ХВ и соавт., а также мета-анализу Mizuguchi S и др., повышенный НЛИ является маркером плохого прогноза и ассоциирован с возникновением рецидива [73,74].

#### ***Б) Тромбоцитарно-лимфоцитарный индекс.***

Тромбоциты могут способствовать адгезии опухолевых клеток к эндотелию, что, в свою очередь, может привести к распространению и метастазированию рака [75,76]. Тромбоциты также способны образовывать агрегаты вокруг опухолевых клеток, что позволяет им избежать иммунного надзора [77]. Кроме того, в тромбоцитах содержится несколько медиаторов, которые способствуют ангиогенезу, что повышает выживаемость опухолевых клеток в метастазах [78]. А благодаря секреции VEGF, тромбоцитарного фактора роста, TGF- $\beta$  и FGF, тромбоциты могут запускать пролиферацию и миграцию клеток [79-81].

Прогностическая ценность тромбоцитарно-лимфоцитарного индекса (ТЛИ) при НМРЛ была многократно исследована [82-85]. Однако из-за различий в дизайне исследования и размере выборки эти исследования

показали противоречивые результаты. Согласно мета-анализу данных различных публикаций в общей сложности 2889 пациентов [86] и мета-анализу 5524 пациентов [87] оказалось, что высокий ТЛИ был связан с худшей общей выживаемостью.

### ***В) Индекс системного воспаления.***

В ряде исследований показано, что индекс системного воспаления (ИСВ), параметр, который объединяет три типа воспалительных клеток (лимфоциты, нейтрофилы и тромбоциты), является более перспективным с точки зрения оценки прогноза пациентов с НМРЛ, чем НЛИ или ТЛИ [88]. Этот индекс может всесторонне отражать баланс иммунного и воспалительного статуса пациента. Кроме того, уже существует несколько исследований, доказывающих [89] или опровергающих прогностическую значимость ИСВ при НМРЛ [90].

Причина, по которой высокое значение ИСВ соответствует плохой выживаемости онкологических больных, остается неясной, однако принимая во внимание вышеописанное влияние клеток периферической крови на рост и распространение опухолевых очагов, более высокий ИСВ может быть связан с ангиогенезом опухоли, инвазией и метастазированием, что как раз может привести к худшей выживаемости пациентов [91-93].

### **1.5. Уровень SUV первичной опухоли в легком.**

Позитронно-эмиссионная томография (ПЭТ) с радиофармпрепаратом (РФП) фтор-18-дезоксиглюкозой широко используется для опеределения стадии рака легкого, уточнения диагноза, повторного обследования при наблюдении за послеоперационными больными, а также оценки радиотерапевтического или химиотерапевтического эффектов [94–97].

Стандартизированный уровень захвата РФП (Standardized Uptake Value - SUV) - это параметр, применяемый в клинической практике для количественной оценки метаболизма опухоли. Некоторые авторы считают,

что SUV первичной опухоли в легком может рассматриваться как прогностический фактор для пациентов с НМРЛ [98-100], другие исследователи оспаривают данное утверждение [101,102]. Однако пороговое значение SUV для оценки прогноза пациентов с НМРЛ в исследованиях различно. Например, некоторые авторы определяли  $SUV > 4$  как прогностический фактор возникновения рецидивов [103], в то время как Vansteenkiste и соавт. [104] сообщили, что SUV более 7 является неблагоприятным прогностическим фактором.

Кроме того, существуют исследования, доказывающие, что высокое значение SUV в первичной опухоли тесно связано с метастазированием в лимфоузлы, что является неоспоримым фактором худшего прогноза пациентов с НМРЛ [105].

### **1.6. PD-L1 на опухолевых клетках**

PD-1 (programmed cell death)- представляет собой белок-рецептор клеточной поверхности, который экспрессируется на поверхности активированных Т- и В-клеток, моноцитах, НК-клетках [106]. Экспрессию PD1 также часто обнаруживают на опухоль-инфильтрирующих клетках [107].

PD-L1 (programmed cell death ligand) - лиганд рецептора PD-1, экспрессируется на Т- и В-клетках, дендритных клетках, макрофагах, эндотелиальных, гемопоэтических и эпителиальных клетках [108–110]. Кроме того, экспрессия PD-L1 была обнаружена на клетках многих типов злокачественных опухолей [111-113], в том числе и немелкоклеточного рака легкого[114].

Взаимодействие рецептора и лиганда в естественных условиях необходимо для предотвращения чрезмерного повреждения клеток и тканей при развитии хронического воспаления и активации иммунной системы в ответ на проникновение чужеродного агента [115,116]. В контексте канцерогенеза в результате PD1/PD-L1 взаимодействия происходит блокирование активации и пролиферации Т-лимфоцитов, а также продукции

ими цитокинов и хемокинов, индуцирование апоптоза CD8<sup>+</sup> Т-лимфоцитов, направленных против опухолевых клеток [117]. Ранее считалось, что высокий уровень экспрессии лиганда определяет исключительно ответ на иммунотерапию препаратами ингибирующими PD1/PD-L1 путь, однако на сегодняшний день существует множество исследований, подтверждающих наличие ответа на иммунотерапию, вне зависимости от уровня экспрессии PDL-1 [118,119].

Вместе с тем, в литературе появляется все больше публикаций посвященных не только предиктивному, но и прогностическому значению PD-L1 [120,121]. К настоящему моменту высокая экспрессия PD-L1 была исследована в качестве маркера неблагоприятного прогноза при многих онкологических заболеваниях [122-128]. Однако, исследования прогностической ценности PD -L1 у пациентов с НМРЛ дали неоднозначные результаты [129,130].

### **1.7 Опухоль-инфильтрирующие лимфоциты.**

К настоящему времени накоплено недостаточное количество информации о иммунном окружении опухоли и его роли в естественном развитии и прогрессировании онкологического заболевания. Известно, что опухоль не существует изолированно, она возникает и развивается в организме, защитные свойства которого, в том числе, способность противостоять раку, могут влиять на возникновение и развитие болезни [131,132].

В состав лимфоидного инфильтрата по данным Gu-Trantein и соавт. входят: Т-лимфоциты (CD3<sup>+</sup>) и составляют примерно 75% клеток, В-лимфоциты (CD20<sup>+</sup>) – менее 20%, моноциты – менее 10% и естественные киллеры – менее 5% от общего числа инфильтрирующих-опухоль лимфоцитов [133]. Среди популяции Т-клеток в лимфоидном инфильтрате наиболее широко представлена популяция CD8-клеток [134].

CD8-положительные цитотоксические Т-клетки являются важнейшим компонентом клеточной иммунной системы и играют ключевую роль в клеточно-опосредованных противоопухолевых иммунных реакциях: они способны уничтожать опухолевые клетки при прямом представлении молекулами МНС I класса [135]. Наличие лимфоидной инфильтрации характерно для большинства солидных опухолей. Высокий уровень опухолеинфильтрирующих лимфоцитов оказался независимым прогностическим фактором увеличения продолжительности жизни больных при гепатоцеллюлярном раке и раке желчного пузыря [136], раке яичников [137], эндометрия [138] и колоректальном раке [139].

Прогностическая значимость всех встречающихся в микроокружении опухоли клеток была проанализирована для НМРЛ. Далеко не все авторы определяют опухоль-инфильтрирующие лимфоциты в качестве фактора прогноза НМРЛ [140], однако согласно ряду исследований, экспрессия именно CD8 положительных, цитотоксических Т-лимфоцитов коррелирует с общей и безрецидивной выживаемостью пациентов с НМРЛ [141,142]. При этом нерешенным также является вопрос, какие именно клетки по отношению к пространственному расположению опухоли следует считать опухольинфильтрирующими лимфоцитами. Donnem Т.Р. и соавт., например, предполагают, что внутриопухолевые инфильтраты являются прогностически значимыми [143], а Kawai О. и др. считают, что важна оценка иммунных клеток в крае опухоли [144].

Кроме того, цитотоксические CD8 положительные Т-клетки вызывают все больший интерес именно при раке легкого, поскольку новые методы его лечения направлены на стимуляцию противоопухолевого иммунитета путем блокирования механизмов, которые могут ингибировать цитотоксические Т-лимфоциты, например, анти-PD1/PD-L1 и анти-CTLA-4 терапия [145].

### **1.8. Маркеры опухолевых стволовых клеток.**



В 2006 году была предложена теория раковых стволовых клеток [146,147], согласно которой некоторые линии опухолевых клеток, являются клоногенными и способствуют росту опухоли. Раковые стволовые клетки экспрессируют специфические молекулы, которые относят к маркерам стволовых клеток [148-151].

Исследования *in vitro* подтвердили, что фракция клеток, экспрессирующих CD44, ALDH, является исключительно клоногенной и онкогенной [152,153]. Эти молекулы были приняты в качестве репрезентативных маркеров для раковых стволовых клеток в различных видах опухолей [154,155]. Считается, что опухоли, богатые раковыми стволовыми клетками, более агрессивны, а клинический исход у таких пациентов значительно хуже [156].

Семейство ALDH представляет собой разнообразную группу ферментов, которые метаболизируют и детоксицируют различные эндогенные и экзогенные альдегиды и окисляют ретинол для синтеза ретиноевой кислоты, которая является важным модулятором дифференцировки клеток [157].

За последнее десятилетие в нескольких исследованиях была исследована прогностическая роль экспрессии ALDH при раке легкого с противоречивыми результатами. Некоторые исследователи пришли к выводу, что высокий уровень экспрессии ALDH коррелирует с высокими показателями выживаемости [158], тогда как другие сообщили, что экспрессия ALDH является негативным прогностическим фактором при раке легкого [159].

CD44 - трансмембранный гликопротеин, который широко экспрессируется на поверхности большинства нормальных и опухолевых клеток [160]. Известно, что в нормальных человеческих клетках CD44 участвует в многочисленных клеточных функциях, включая пролиферацию, адгезию, миграцию, кроветворение, активацию лимфоцитов [161].

Было показано, что при различных типах злокачественных опухолей высокие уровни экспрессии CD44 ассоциированы с прогрессированием

заболевания [162-165]. При НМРЛ определение экспрессии маркера CD44 в качестве фактора прогноза остается спорным, главным образом, из-за ограниченного числа пациентов в исследованиях.

## Глава 2. Материал и методы

В ретроспективное исследование были включены данные клинического обследования и лечения 394 пациентов с диагнозом НМРЛ I-II стадии в соответствии с 7-м изданием классификации TNM, находившихся на лечении в Центре Интенсивной Пульмонологии и Торакальной Хирургии СПб ГБУЗ ГМПБ №2 с октября 2003 по декабрь 2017 года. Нами были проанализированы протоколы операций, данные лабораторных и инструментальных исследований, результаты гистологических и иммуногистохимических исследований, выписные эпикризы.

### 2.1. Характеристика больных

В группе представлено 313 (79%) мужчин и 81 (20%) женщин в возрасте от 24 до 85 лет (средний возраст составил  $63,2 \pm 9,3$  лет). Распределение пациентов разного пола по возрасту представлено в таблице 3.

Таблица 3.

Распределение больных по полу и возрасту

<b>Возраст</b> <b>Пол</b>	<b>≤50 лет</b>	<b>51-60 лет</b>	<b>61-70 лет</b>	<b>&gt; 70 лет</b>	<b>Всего</b>
<b>Мужчины</b>	21 (5%)	94 (24%)	135 (34%)	63 (16%)	313 (79%)
<b>Женщины</b>	0 (3%)	22 (6%)	25 (6%)	24 (6%)	81 (21%)
<b>Всего</b>	31 (8%)	116 (30%)	160 (40%)	87 (22%)	394 (100%)

Сопутствующая патология была оценена по индексу коморбидности Чарльсон (Charlson Comorbidity Index- CCI) у 212 (54%) пациентов. Индекс в

исследуемой группе составил от 2 до 10, в среднем –  $5,1 \pm 1,7$ . 84 (40%) пациента имели CCI 5 и более (табл. 4).

Таблица 4.

#### Распределение пациентов по полу и CCI

Пол	CCI, балл		Итого
	Менее 5	5 и более	
<b>Мужчины</b>	99 (47%)	70 (33%)	169 (80%)
<b>Женщины</b>	29 (14%)	14 (6 %)	43 (20%)
<b>Всего</b>	128 (61%)	84 (39%)	212 (100%)

Среди представленных больных в 61% случаев (n=242) был выявлен плоскоклеточный рак, в 32% (n=127)- аденокарцинома и в 4% (n=14) - железисто-плоскоклеточный рак. Другие гистологические типы, такие как крупноклеточный, светлоклеточный, бронхиолоальвеолярный рак и карцинома in situ, выявлялись приблизительно с одинаковой частотой. Распределение больных по гистологическому типу опухоли отображено в таблице 5.

Таблица 5.

#### Распределение больных по гистологическому типу рака

	Плоскоклеточный	Аденокарцинома	Железисто-плоскоклеточный	Другие	Всего
<b>Количество больных (%)</b>	242 (61%)	127 (32%)	14 (4%)	1 (3%)	394 (100%)

## **2.2. Методы обследования пациентов и варианты хирургического лечения.**

Для оценки функциональной операбельности больных выполнялись общеклинические лабораторные и инструментальные обследования (клинический и биохимический анализы крови, ЭКГ, ЭХО-КГ, спирометрия, УЗИ органов брюшной полости). Морфологическая верификация диагноза осуществлялась по результатам визуальной биопсии и чрезбронхиальной биопсии легкого при фибробронхоскопии, трансторакальной тонкоигольной биопсии, интраоперационной биопсии. Для оценки первичной опухоли в легком и степени распространенности метастатического процесса пациентам проводились различные методы неинвазивного и инвазивного предоперационного стадирования (КТ, ПЭТ/КТ, медиастиноскопия).

Стадия рака легкого устанавливалась в соответствии с классификацией TNM 7-ого пересмотра по результатам гистологического исследования резецированной легочной ткани и лимфатических узлов. Пациенты с III и IV стадией НМРЛ в исследование включены не были. Распределение больных в соответствии с классификацией TNM в зависимости от N стадии представлено в таблице 6.

Таблица 6.

### **Распределение больных в соответствии с классификацией TNM 7-ого пересмотра в зависимости от N стадии**

<b>Стадия TNM</b>	<b>N0</b>	<b>N1</b>	<b>Всего</b>
<b>Iis</b>	2 (1%)	0	2 (1%)
<b>IA</b>	68 (17%)	0	68 (17%)
<b>IB</b>	180 (46%)	0	180 (46%)
<b>IIA</b>	35 (9%)	14 (3%)	49 (12%)
<b>IIB</b>	44 (11%)	51 (13%)	95 (24%)
<b>Всего</b>	<b>329 (84%)</b>	<b>65 (16%)</b>	<b>394 (100%)</b>

Хирургическое лечение пациентов включало в себя два этапа: анатомическую резекцию легкого и лимфодиссекцию. У 69% пациентов (n=272) была выполнена лобэктомия, 17% (n=68) - подверглись пневмонэктомии, у 8% (n=29) произведена билобэктомия. Бронхо- и ангиопластические операции были выполнены у 6% (n=25) пациентов (табл. 7).

Таблица 7.

**Распределение больных в зависимости от стадии и вида оперативного вмешательства**

Стадия Вид оперативного вмешательства	Iis	IA	IB	IIA	IIB	Всего
Лобэктомия	2 (1%)	61 (15%)	119 (30%)	44 (11%)	46 (12%)	272 (69%)
Билобэктомия	0 (0%)	4 (1%)	14 (3%)	3 (1%)	8 (2%)	29 (7%)
Пневмонэктомия	0 (0%)	3 (1%)	30 (8%)	2 (1%)	33 (8%)	68 (17%)
Бронхо- ангиопластика	0 (0%)	0 (0%)	17 (4%)	0 (0%)	8 (2%)	25 (6%)
Всего	2 (1%)	68 (17%)	180 (45%)	49 (13%)	95 (24%)	394 (100%)

Для изучения параметров выживаемости нами были проанализированы отдаленные результаты лечения, которые были получены у 345 из 394 больных, что составило 87%.

Оценка отдаленных результатов лечения пациентов осуществлялась с использованием данных городского ракового регистра, а также путем телефонного опроса и вызова пациентов на осмотр для контрольного обследования.

### **2.3. Методика определения клинических, патоморфологических и иммуногистохимических маркеров.**

Прогностическая ценность клинических маркеров воспаления производилась с помощью расчета следующих соотношений (по результатам клинического анализа периферической крови на этапе предоперационного обследования): нейтрофильно-лимфоцитарного индекса (НЛИ, отношение абсолютного числа нейтрофилов к абсолютному числу лимфоцитов); тромбоцитарно-лимфоцитарного индекса (ТЛИ, отношение абсолютного числа тромбоцитов к абсолютному числу лимфоцитов), индекса системного воспаления (ИСВ, отношение произведения абсолютного числа нейтрофилов и тромбоцитов к абсолютному числу лимфоцитов).

Для определения гистологического типа опухоли и установления окончательной (патологической) N стадии резецированное легкое и лимфатические узлы отправляли на патоморфологическое исследование с изготовлением парафиновых срезов и последующим изучением микропрепаратов, окрашенных гематоксилином-эозином по стандартной методике.

Исследование уровня экспрессии CD8, PD-L1, ALDH и CD44 было проведено на операционном материале с использованием метода иммуногистохимии по стандартной методике. Для анализа были исследованы срезы толщиной 3-4 мкм с фиксированных формалином парафиновых блоков.

Для определения уровня экспрессии PD-L1 реакции были проведены с помощью иммуногистогеянера Ventana BenchMark ULTRA с использованием антитела PD-L1 (SP263, Roche-Ventana) по стандартному протоколу, системы детекции OptiView DAB IHC Detection Kit. Оценка экспрессии PD-L1 осуществлялась с использованием Tumor Proportional Score (TPS, %) путем подсчета отношения опухолевых клеток с полным или частичным окрашиванием мембраны PD-L1 (+) к общему количеству клеток опухоли. При TPS менее 1% (0 баллов) экспрессия оценивалась как негативная, при TPS от 2% до 49% - низкая (1 балл) и при TPS более 50% - высокая (2 балла).

Наличие экспрессии белка CD44 в ткани опухоли определялось с применением мышиных моноклональных антител Dako (клон DF1485) в разведении 1:50 после демаксировки антигена с использованием буфера Tris-EDTA Buffer (pH – 9,0) при температуре 95-95°C в течение 30 минут. Реакция окраски цитоплозматической мембраны клетки оценивалась полуколичественно. Интенсивность экспрессии CD44 была определена как отрицательная (0 баллов), слабая (1 балл), умеренная (2 балла) или сильная (3 бала). Процент окрашенных клеток к общему числу клеток опухоли мы распределяли по группам следующим образом: группа 1 – менее 25% окрашенных клеток, группа 2 – 25-50% окрашенных клеток, группа 3 – от 51 до 75% и группа 4 – более 75% клеток. Для интерпретации данных мы использовали шкалу H-Score, умножали балл за интенсивность экспрессии на процент окрашенных клеток и получали диапазон значений от 0 до 300. Полученные значения H-Score были разделены на группы, характеризующие экспрессию маркера: 0 определяли как негативную экспрессию, 1-100 определяли как слабую экспрессию, 100-200 как умеренную и 200-300 как сильную.

Экспрессия ALDH оценивалась при окрашивании цитоплазмы клеток опухоли с использованием кроличьих моноклональных антител Epitomics (клон EP168) в разведении 1:400 после инкубации в течение 30 минут при комнатной температуре (19-22 °C) с последующим применением системы детекции Dako REAL EnVisionDetection System. Анализ результатов проводился полуколичественно и соответствовал алгоритму оценки экспрессии белка CD44.

Экспрессия CD8 определялась с использованием мышиных моноклональных антител Leica (клон 4B11) в разведении 1:50 после инкубации в течение 30 минут при комнатной температуре (19-22 °C). Реакция оценивалась по окраске опухолевых клеток без учета перитуморальной инфильтрации и зоны стромы с некрозом. В зависимости от процента окрашенных клеток, уровни экспрессии были разделены на следующие



группы: менее 10% - негативная экспрессия (0 баллов), от 10% до 49%- низкая (1 балл) и более 50% - высокая экспрессия (2 балла).

#### **2.4. Статистический анализ**

Статистическая обработка материала выполнялась с использованием программного пакета для обработки информации SPSS (версия 23).

Для сравнения порядковых переменных использовались непараметрические критерии Манна-Уитни (для 2-х выборок) и Краскала-Уоллиса (для 3-х и более выборок), достоверными считались различия с уровнем значимости  $(p) < 0,05$ .

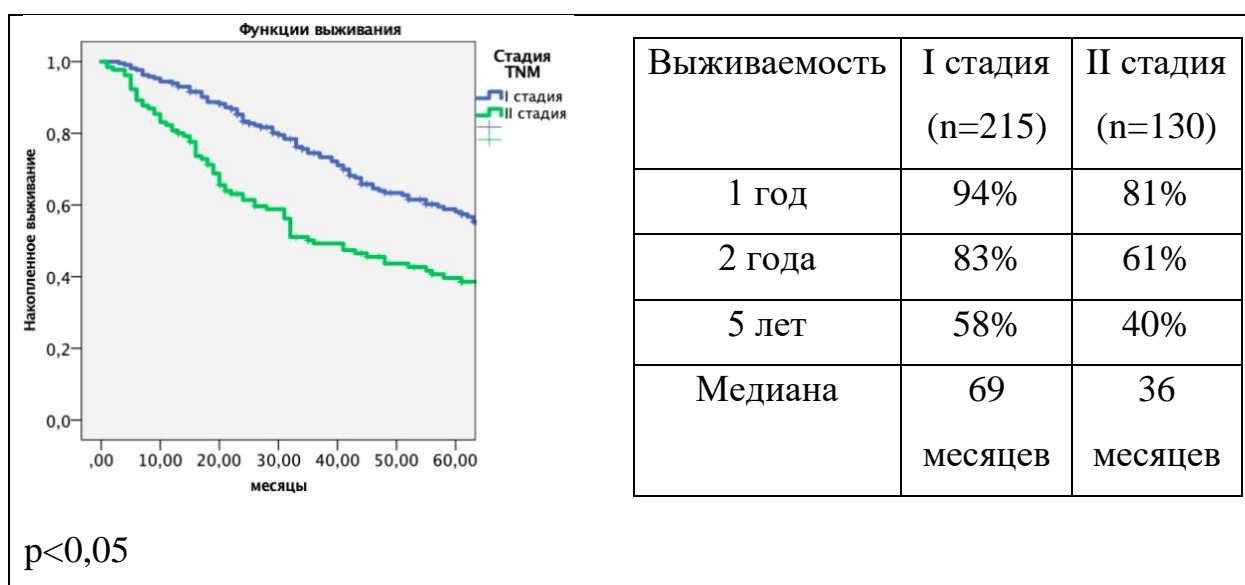
Общая выживаемость пациентов определяется как процент пациентов с НМРЛ I-II стадии, переживающий определенный период времени с момента постановки диагноза. Онкоспецифическая выживаемость – это процент пациентов с НМРЛ I-II стадии, переживающий определенный период времени с момента постановки диагноза, за вычетом пациентов, смерть которых наступила по причинам не связанным с данным онкологическим заболеванием.

Общая и онкоспецифическая выживаемость больных оценивались методом Каплана-Мейера (для оценки достоверности различий между кривыми выживаемости применялся Logrank и Breslow тест).

Для определения порогового значения индексов был проведен ROC-анализ с расчетом показателя AUC (area under ROC curve). С использованием корреляционного анализа Спирмена было определено наличие взаимосвязей между данными.

### Глава 3. Отдаленные результаты хирургического лечения больных НМРЛ I-II стадии

При анализе отдаленных результатов пациентов в зависимости от стадии заболевания было выявлено, что 5-летняя выживаемость пациентов с I стадией существенно выше, чем у больных со II стадией НМРЛ, а медиана выживаемости при I стадии составляет 69 месяцев против 36 месяцев при II стадии (рис. 1).



**Рис. 1. Отдаленные результаты хирургического лечения больных НМРЛ I-II стадии**

При изучении отдаленных результатов больных в зависимости от гистологического типа опухоли, статистически значимых различий в 5-летней выживаемости получено не было (табл. 8).

Таблица 8.

#### Выживаемость больных в зависимости от гистологического типа опухоли

Выживаемость	Плоскоклеточный (n=200)	Аденокарцинома (n=111)	Другие типы (n=34)
1 год	94%	91%	90%

<b>2 года</b>	87%	84%	80%
<b>5 лет</b>	73%	61%	46%
<b>Медиана</b>	60 месяцев	70 месяцев	69 месяцев

Также не было выявлено достоверных различий в отдаленных результатах хирургического лечения у больных с центральной и периферической формами рака (табл. 9).

Таблица 9.

**Выживаемость больных в зависимости от клинико-анатомической формы рака**

<b>Выживаемость</b>	<b>Центральная форма (n=130)</b>	<b>Периферическая форма (n=215)</b>
<b>1 год</b>	87%	90%
<b>2 года</b>	71%	77%
<b>5 лет</b>	52%	50%
<b>Медиана</b>	62 месяца	63 месяца

Анализ отдаленных результатов лечения больных в зависимости от возраста выявил достоверные различия в 5-летней выживаемости: в группах больных до 60 лет, от 60 до 69 и больше 70 лет, 5-летняя выживаемость составила 59%, 53% и 34% соответственно ( $p<0,05$ ) (табл.10).

Таблица 10.

**Выживаемость больных в зависимости от возраста**

<b>Выживаемость</b>	<b>&lt;60лет (n=122)</b>	<b>60-69 лет (n=133)</b>	<b>&gt;70 лет (n=90)</b>
---------------------	------------------------------	------------------------------	------------------------------

<b>1 год</b>	96%	86%	83%
<b>2 года</b>	81%	75%	66%
<b>5 лет</b>	59%	53%	34%
<b>Медиана</b>	84 месяца	65 месяцев	35 месяцев

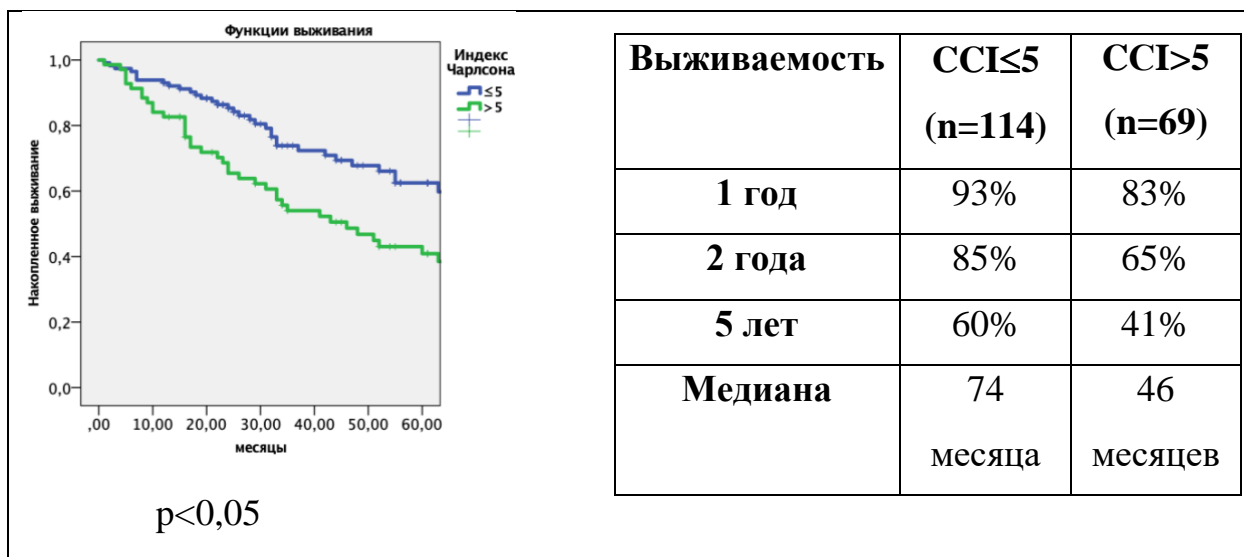
При изучении отдаленных результатов лечения больных в зависимости от пола было выявлено, что 5-летняя выживаемость у женщин значительно выше, чем у мужчин, а медиана выживаемости составила 97 и 55 месяцев, соответственно ( $p<0,05$ ) (табл. 11).

Таблица 11.

#### **Выживаемость больных в зависимости от пола**

<b>Выживаемость</b>	<b>Мужчины (n=261)</b>	<b>Женщины (n=84)</b>
<b>1 год</b>	95%	97%
<b>2 года</b>	71%	87%
<b>5 лет</b>	48%	60%
<b>Медиана</b>	55 месяцев	97 месяцев

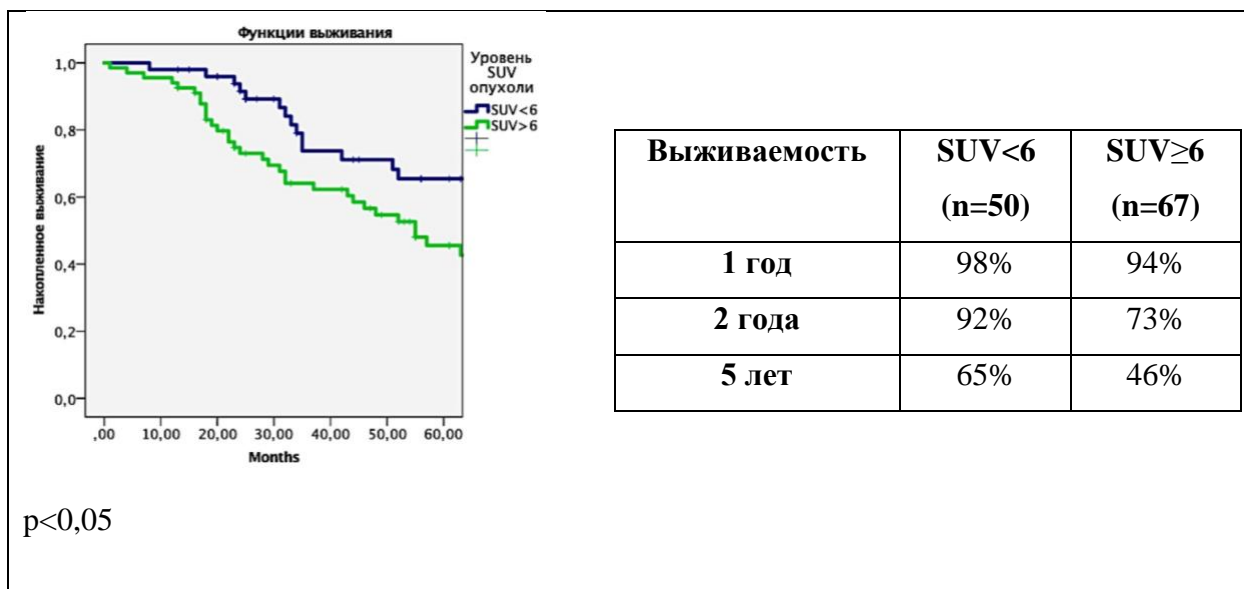
Высокий индекс коморбидности Чарльсон (Charlson Comorbidity Index- CCI) был ассоциирован с худшей выживаемостью пациентов. Так, 5-летняя выживаемость пациентов с CCI меньше 5 оказалась значительно выше, чем у больных с высоким индексом коморбидности ( $CCI>5$ ), и составила 60% и 41% соответственно (рис. 2).



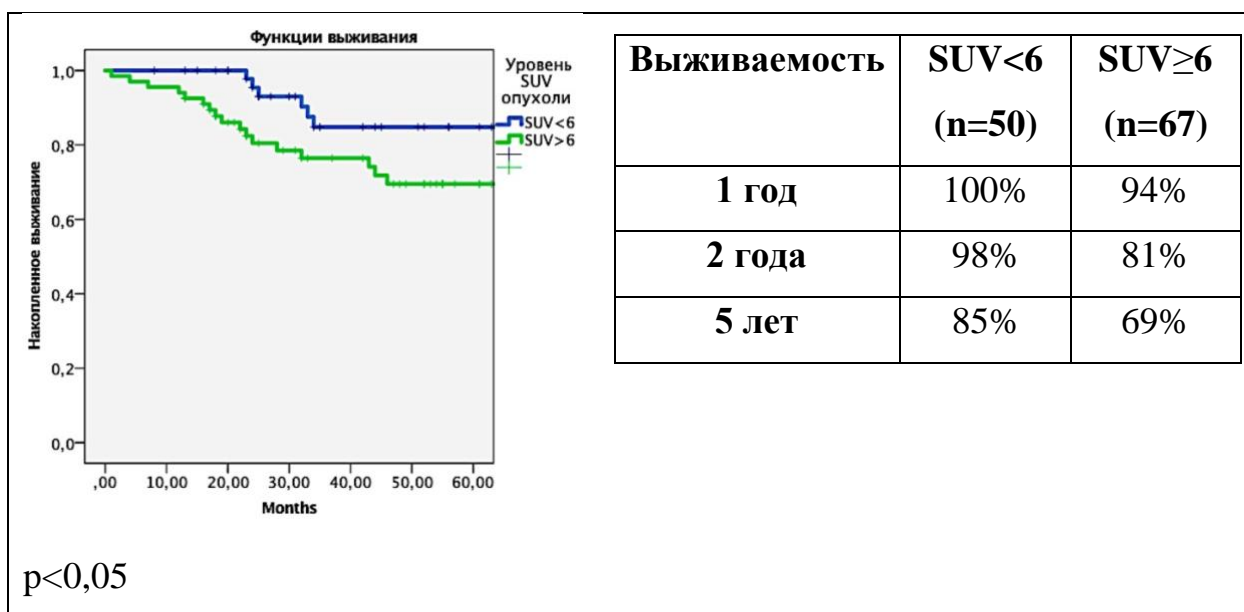
**Рис.2. Выживаемость больных в зависимости от индекса коморбидности Чарльсон**

В дальнейшем нами были проанализированы отдаленные результаты хирургического лечения больных НМРЛ I-II стадии в зависимости от уровня SUV первичной опухоли у 117 пациентов. Методом ROC-анализа было установлено пороговое значение для уровня SUV= 6.

Анализ данных показал, что общая 5-летняя выживаемость пациентов при SUV опухоли < 6, значительно выше, чем у больных при SUV ≥6, 65% против 46% соответственно (рис. 3). Онкоспецифическая выживаемость также выше у больных при SUV<6 и составляет 85% против 69% у больных при SUV ≥6 (рис.4).

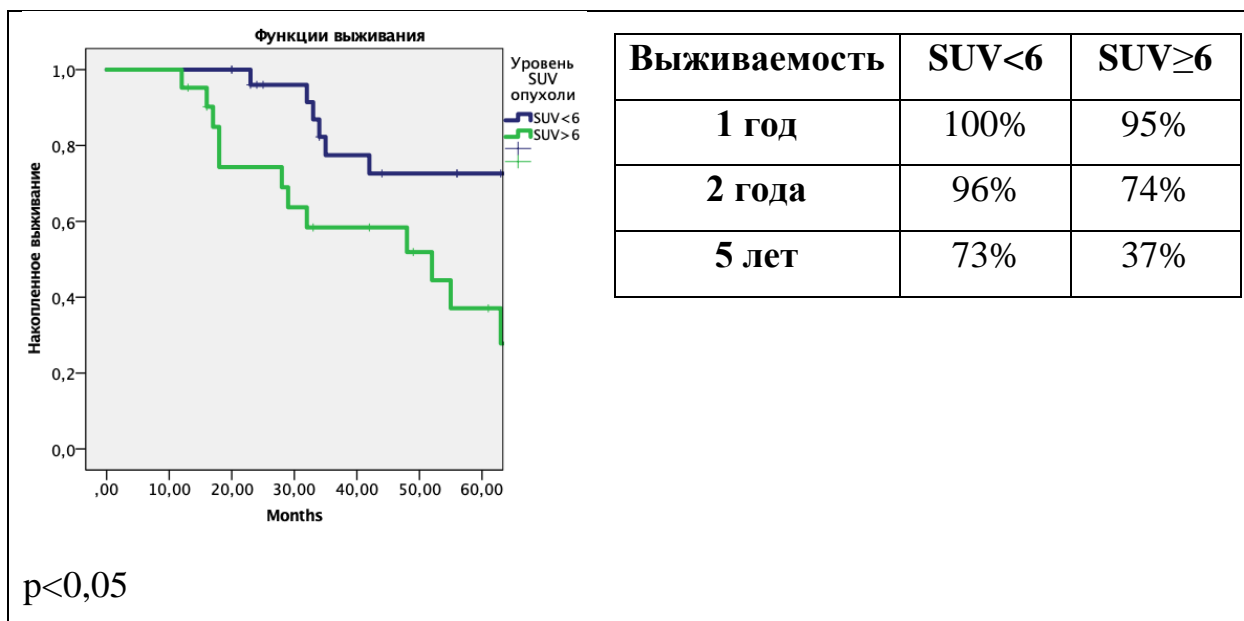


**Рис.3. Общая выживаемость больных в зависимости от SUV первичной опухоли**

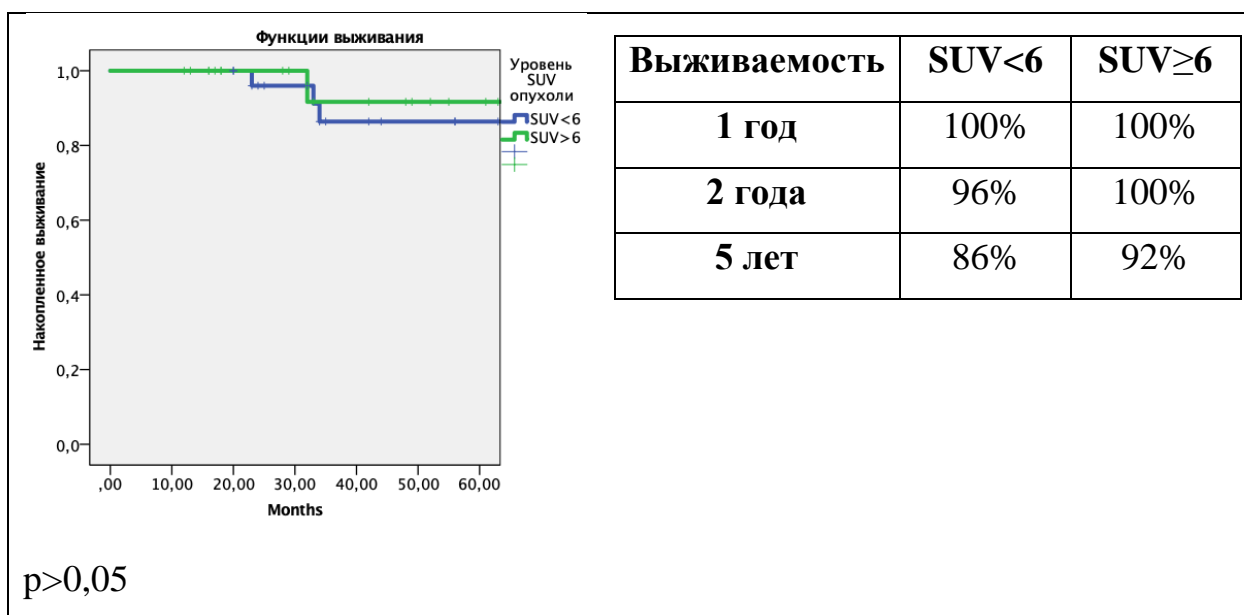


**Рис.4. Онкоспецифическая выживаемость больных в зависимости от SUV первичной опухоли**

Статистически значимыми оказались различия в выживаемости у больных с аденокарциномой в зависимости от SUV первичной опухоли (рис. 5). Для плоскоклеточного рака данной закономерности выявлено не было (рис. 6).



**Рис.5. Выживаемость больных с аденокарциномой в зависимости от уровня SUV первичной опухоли**



**Рис.6. Выживаемость больных с плоскоклеточным раком в зависимости от уровня SUV первичной опухоли**

Кроме того, были проанализированы отдаленные результаты у 156 пациентов I-II стадии НМРЛ в зависимости от значений индексов системного воспаления на основании результатов клинического анализа периферической крови. Средний уровень нейтрофилов в периферической крови пациентов составил  $5,29 \pm 2,79 \times 10^9/\text{л}$ , тромбоцитов –  $284,72 \pm 83,95 \times 10^9/\text{л}$ , лимфоцитов -

$2,28 \pm 0,79 \times 10^9/\text{л}$ . При расчете средних значений индексов показатели нейтрофильно-лимфоцитарного, тромбоцитарно-лимфоцитарного индекса и индекса системного воспаления составили  $2,57 \pm 1,79$ ;  $139,36 \pm 68,24$  и  $757,58 \pm 663,63$  соответственно. Средние значения клинических маркеров воспаления представлены в таблице 12.

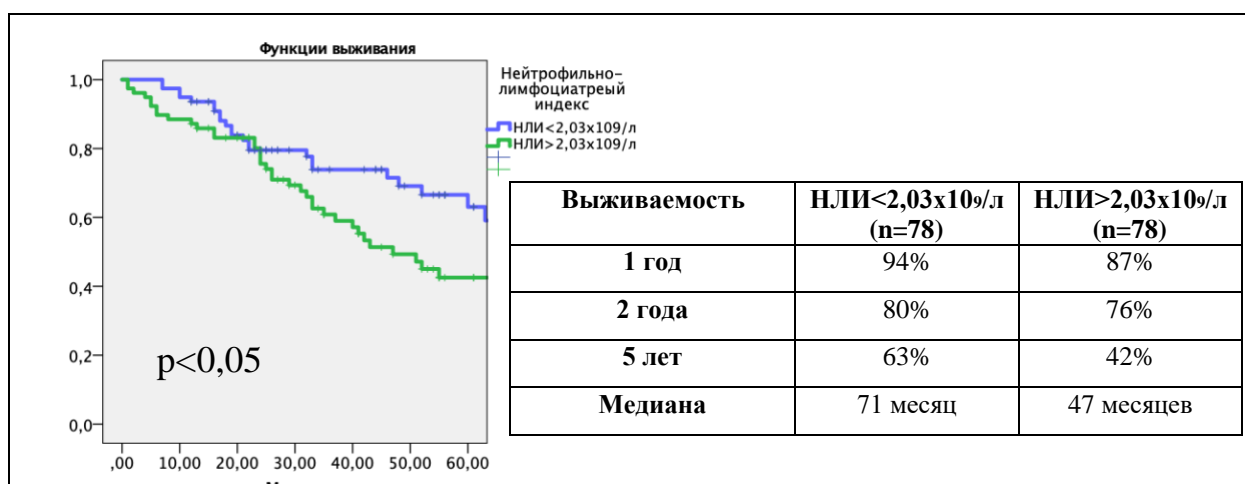
Таблица 12.

### Средние значения клинических маркеров воспаления

Показатели периферической крови			Относительные индексы		
Нейтрофилы ( $10^9/\text{л}$ )	Тромбоциты ( $10^9/\text{л}$ )	Лимфоциты ( $10^9/\text{л}$ )	НЛИ	ТЛИ	ИСВ
$5,29 \pm 2,79$ (0,7-17,4)	$284,72 \pm 83,95$ (119-550)	$2,28 \pm 0,79$ (0,9-5,56)	$2,57 \pm 1,79$ (0,5-12,75)	$139,36 \pm 68,24$ (54,08-523,33)	$757,58 \pm 663,63$ (110,9-5258,67)

При ROC-анализе были определены пороговые значения для НЛИ, ТЛИ и ИСВ, которые составили  $2,03 \times 10^9/\text{л}$ ,  $109,17 \times 10^9/\text{л}$  и  $489,67 \times 10^9/\text{л}$ , соответственно.

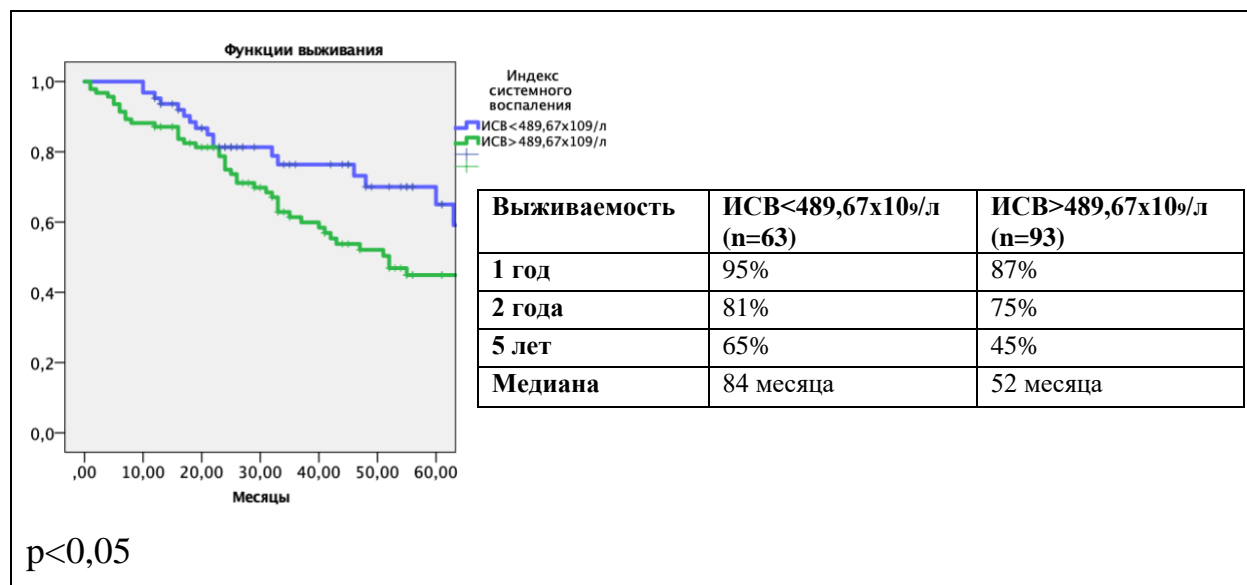
Выяснилось, что 5-летняя выживаемость больных при высоком значении НЛИ ( $>2,03 \times 10^9/\text{л}$ ) была достоверно ниже, чем при НЛИ менее  $2,03 \times 10^9/\text{л}$ , и составила 42% против 63% соответственно ( $p=0,05$ ) (рис. 7).





## Рис.7.Выживаемость больных в зависимости от значения нейтрофильно-лимфоцитарного индекса

Высокое значение ИСВ ( $>489,67 \times 10^9/\text{л}$ ) ассоциировано с худшей выживаемостью пациентов, 5-летняя выживаемость составила 45% против 65% при ИСВ  $<489,67 \times 10^9/\text{л}$  ( $p < 0,05$ ) (рис. 8).

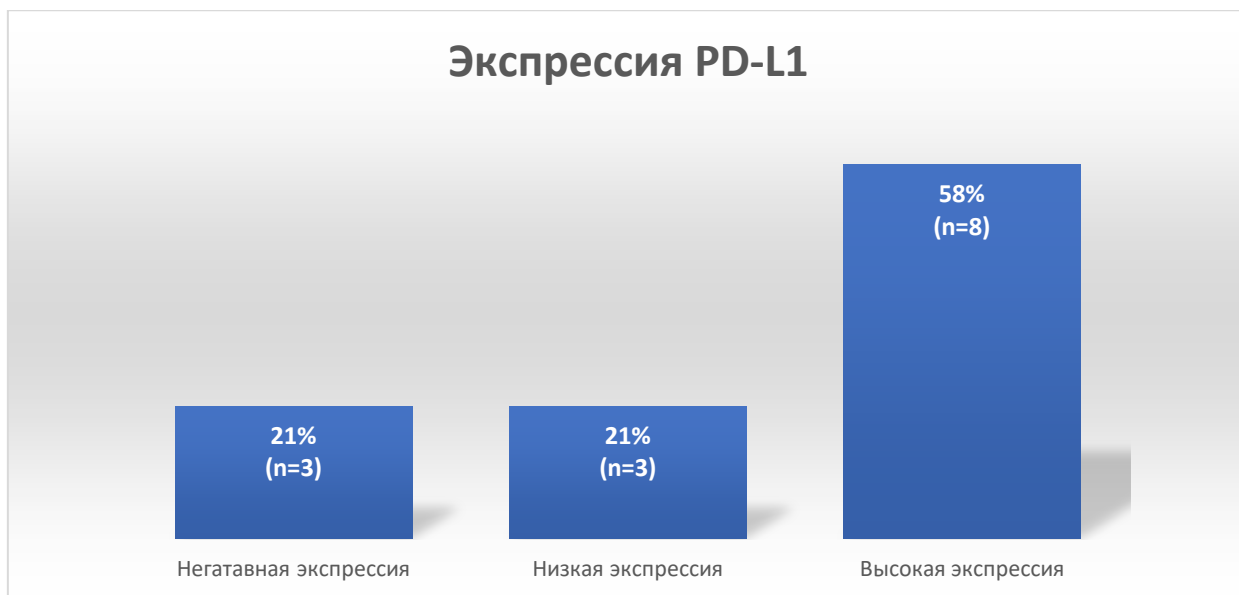


**Рис. 8. Выживаемость больных в зависимости от значения индекса системного воспаления**

Значимых различий выживаемости больных в зависимости от уровня тромбоцитарно-лимфоцитарного индекса получено не было.

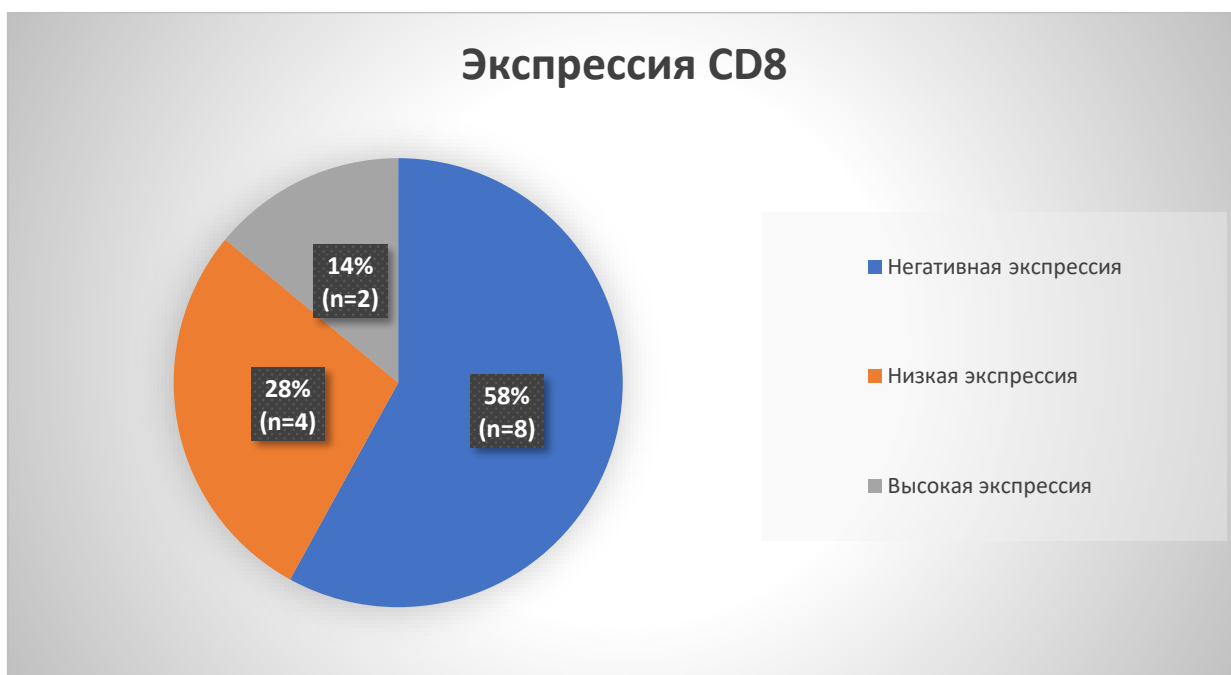
С использованием метода иммуногистохимии, мы проанализировали наличие и характер экспрессии потенциальных прогностических факторов у 14 пациентов с ранним прогрессированием НМРЛ I-II стадии, среди которых 12 пациентов были с плоскоклеточным раком и 2 пациента с аденокарциномой.

При оценке уровня экспрессии PD-L1 было выявлено, что у 21% пациентов ( $n=3$ ) отсутствовала экспрессия маркера, в то время как 79% пациентов ( $n=11$ ) имели экспрессию PD-L1 (рис. 9).



**Рис. 9. Распределение больных в зависимости от уровня экспрессии PD-L1.**

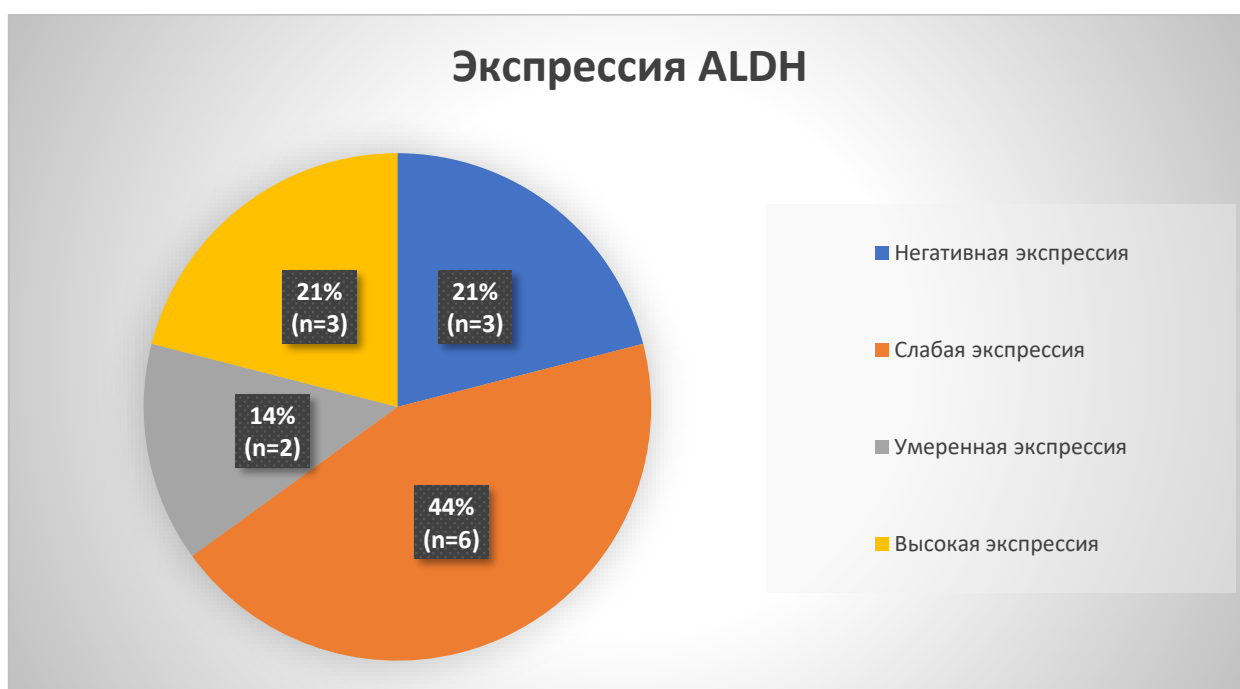
При оценке уровня экспрессии CD8 выяснилось, что 58% пациентов (n=8) не имели экспрессии CD8, 29% (n=4) имели низкий уровень экспрессии и лишь у 13% больных (n=2) уровень экспрессии был высоким (рис. 10).



**Рис. 10. Распределение больных в зависимости от экспрессии CD8.**

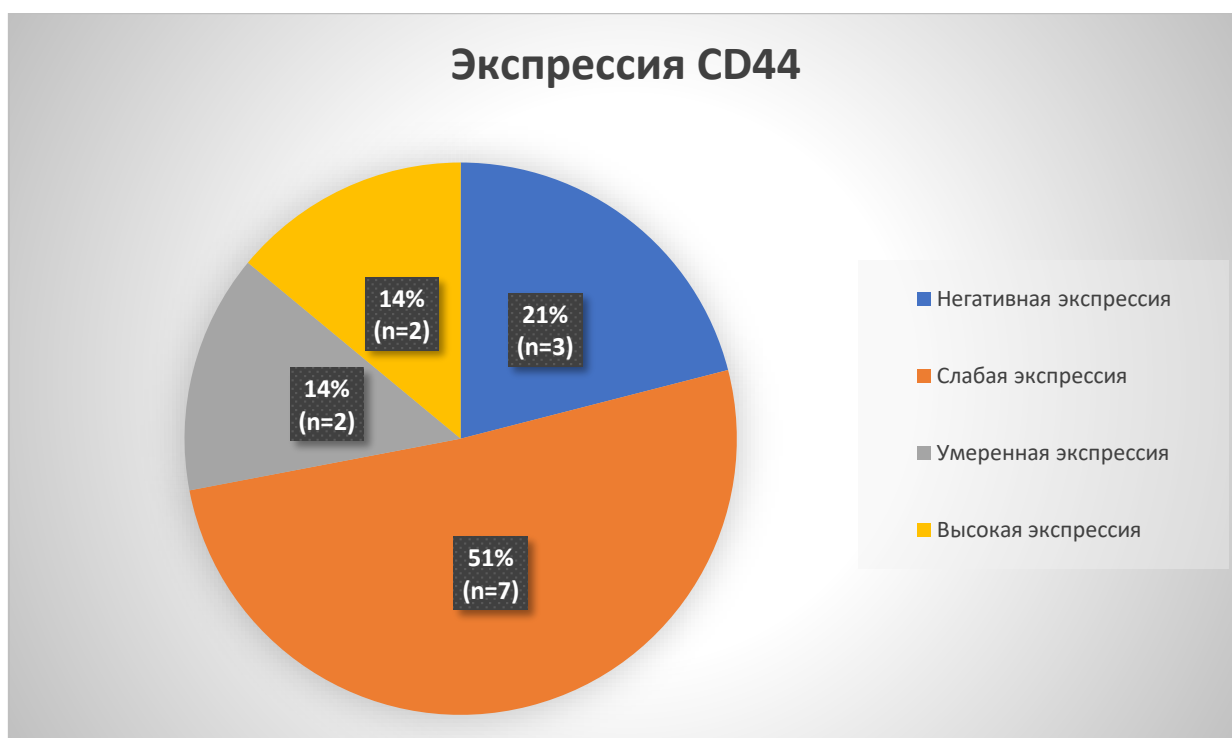
Корреляционный анализ Спирмена выявил взаимосвязь между высоким уровнем экспрессии PD-L1 и отсутствием экспрессии CD8 ( $p < 0,05$ ).

Также, у 79% пациентов ( $n=11$ ) с ранним прогрессированием опухоли на I-II стадии НМРЛ была выявлена экспрессия ALDH. При этом, 21% ( $n=3$ ) пациентов имели высокую экспрессию маркера, 14% ( $n=2$ ) – умеренную и 44% ( $n=6$ ) – слабую экспрессию ALDH (рис.11).



**Рис. 11. Распределение больных в зависимости от уровня экспрессии ALDH.**

При исследовании уровня экспрессии CD44, 14% ( $n=2$ ) пациентов имели высокую экспрессию, 14% ( $n=2$ ) – умеренную и 51% ( $n=7$ ) – слабую экспрессию маркера. У 21% пациентов ( $n=3$ ) экспрессии выявлено не было. Распределение больных в зависимости от экспрессии CD44 представлено рисунке 12.



**Рис. 12. Распределение больных в зависимости от уровня экспрессии CD44.**

Для выявления прогностической значимости изученных параметров нами был проведен регрессионный анализ Кокса (табл.13). Ввиду малого количества пациентов, у которых были изучены иммуногистохимические параметры, данные критерии не были включены в регрессионный анализа. Возраст пациента более 70 лет, высокие показатели НЛИ и ИСВ являлись неблагоприятными факторами в отношении прогноза заболевания (ОР 1,908; 1,626 и 1,735 соответственно,  $p < 0,05$ ).

Таблица 13.

**Однофакторный регрессионный анализ при I-II стадиях НМРЛ**

Показатель	Однофакторный анализ		
	ОР	95% ДИ	p
Пол (женский)	0,534	0,291-,980	0,04

<b>Возраст (&gt;70 лет)</b>	<b>1,908</b>	<b>1,361-2,677</b>	<b>0,000</b>
Гистологический тип опухоли (аденокарцинома)	0,998	0.817-1,217	0,9
Объем резекции легкого (лобэктомия)	0,849	0,543-1,328	0,474
Количество удаленных групп лимфоузлов (<6)	1,117	0,822-1,519	0,479
<b>НЛИ (&gt;2,03x10<sup>9</sup>/л)</b>	<b>1,626</b>	<b>0,994-2,659</b>	<b>0,053</b>
<b>ИСВ (&gt;489,67x10<sup>9</sup>)</b>	<b>1,735</b>	<b>1,018-2,956</b>	<b>0,043</b>

### **Заключение**

Несмотря на прогресс, достигнутый за последние годы в терапии больных с НМРЛ, отдаленные результаты лечения пациентов остаются неудовлетворительными [1]. На сегодняшний день основным фактором прогноза больных НМРЛ является стадия опухоли, основанная на классификации TNM. Однако отдаленные результаты хирургического лечения пациентов с одной и той же стадией рака могут сильно отличаться. Так, например, 5-летняя выживаемость при I стадии варьирует от 55% до 90%, а при II - от 40% до 65% [8], что, вероятно, связано с другими факторами прогноза, не включенными в современную классификацию, отражающими биологическую агрессивность опухоли и особенности противоопухолевого иммунитета.

В настоящем исследовании проанализирована выживаемость пациентов с НМРЛ I-II стадии в зависимости от потенциальных факторов прогноза. Научная новизна и практическая значимость данного исследования заключается не только во всесторонней и комплексной оценке различных клинических, рентгенологических, лабораторных и морфологических критериев, но и в том, что впервые в отечественной литературе на небольшой группе больных раннее прогрессирование рака легкого после радикальных операций объяснено с точки зрения особенностей взаимодействия опухоли и иммунной системы, а также с учетом концепции опухолевых стволовых клеток.

Считается, что рак легкого встречается чаще у пожилых людей, при этом треть пациентов старше 70 лет [40]. Возраст старше 50 лет по мнению многих авторов является фактором неблагоприятного прогноза у пациентов с немелкоклеточным раком легкого I-II стадии [52-54]. По нашим данным возраст пациента больше 70 лет является достоверным неблагоприятным прогностическим фактором ( $p < 0,05$ ).

Большинство публикаций, посвященных роли гистологического типа опухоли и клинико-анатомической формы рака в качестве фактора прогноза

пациентов с НМРЛ противоречивы [26,28,31,34]. В своем исследовании мы не получили достоверных различий в выживаемости пациентов в зависимости от этих признаков. Важнейшим фактором, определяющим общую выживаемость пациентов после хирургического лечения НМРЛ, является степень выраженности сопутствующей патологии, которую, на наш взгляд, наиболее точно отражает индекс коморбидности Чарльсон (CCI). Наши данные свидетельствуют о том, что 5-ти летняя выживаемость пациентов с низким индексом Чарльсон ( $CCI < 5$ ) значительно выше, чем выживаемость больных с высоким уровнем коморбидности ( $CCI > 5$ ), что во многом соответствует данным литературы, где высокое значение индекса Чарльсон ассоциировано с худшим прогнозом пациентов с НМРЛ, однако пороговые значения индекса различны [36-39].

Также нами было выявлено, что уровень SUV первичной опухоли в легком при ПЭТ обладает самостоятельным прогностическим значением у больных НМРЛ, что соответствует данным современной литературы и косвенно отражает биологическую агрессивность опухоли [98,99,103,104].

Некоторыми авторами отмечено, что в качестве прогностических факторов могут использоваться маркеры системного воспаления [9,63,64]. По результатам нашего исследования индекс системного воспаления (ИСВ) и нейтрофильно-лимфоцитарный индекс (НЛИ) являются независимыми факторами прогноза у больных, оперированных по поводу I и II стадий НМРЛ, что согласуется с данными литературы.[72,73,74] По мнению некоторых авторов соотношение тромбоцитов к лимфоцитам (ТЛИ) также может иметь прогностическую роль при НМРЛ [86,87], однако в нашем исследовании данный индекс не имел самостоятельного значения.

Перечисленные выше факторы прогноза НМРЛ основаны на известных методах обследования пациентов, что позволяет сравнительно легко имплементировать их в повседневную клиническую практику. Вместе с тем, следует признать, что такие критерии, как SUV опухоли при ПЭТ и гематологические индексы системного воспаления вторичны по отношению к

истинной причине неблагоприятного прогноза после радикальной операции. В качестве непосредственного объяснения агрессивного поведения опухоли могут рассматриваться особенности противоопухолевого иммунитета, а также количество и свойства опухолевых стволовых клеток. Именно эти причины раннего прогрессирования опухоли у пациентов с НМРЛ I-II стадии были изучены нами на небольшой группе пациентов путем определения экспрессии PDL-1, CD-8, CD-44 и ALDH. Малое количество наблюдений не позволило нам выявить статистически значимые закономерности, однако полученные данные весьма интересны и, безусловно, станут основой для дальнейших исследований.

PD-L1- трансмембранный белок, экспрессируемый на мембранах опухолевых клеток, играет важную роль в уклонении опухоли от иммунного надзора посредством связывания с рецептором PD-1 на мембранах иммунных клеток, что в свою очередь блокирует активацию и пролиферацию Т-лимфоцитов, индуцирует апоптоз CD8 положительных Т-лимфоцитов, направленных против опухолевых клеток, уменьшает пролиферацию антиген-специфических CD8 положительных Т-клеток [18]. В нашем исследовании 21% пациентов (n=3) с ранним прогрессированием опухоли не имели экспрессии PDL-1 в опухоли, а у 79% (n=11) была выявлена низкая и высокая экспрессия данного маркера. Важно отметить, что, согласно данным литературы, в общей популяции больных с НМРЛ I-II стадии, наоборот, у 70-80% пациентов экспрессия PDL-1 отсутствует и лишь у 5-10% регистрируется высокая экспрессия маркера [145]. Сопоставив данные литературы с полученными нами результатами, можно предположить, что высокая экспрессия PDL-1 ассоциирована с ранним прогрессированием НМРЛ I-II стадии [126-128].

Важнейшим критерием активности и эффективности противоопухолевого иммунитета является количество инфильтрирующих опухоль лимфоцитов. Популяция этих лимфоцитов почти полностью представлена цитотоксическими CD8 положительными Т-клетками [134]. Мы



исследовали экспрессию CD8, отражающую количество опухоль-инфильтрирующих лимфоцитов в группе больных с ранним прогрессированием НМРЛ. У 58% пациентов (n=8) не выявлялась экспрессия CD8, 28% (n=4) имели низкую экспрессию и лишь 14% (n=2) - высокую. Полученные результаты позволяют предположить, что недостаточное количество опухоль-инфильтрирующих CD8 лимфоцитов является одной из причин раннего прогрессирования опухоли после радикальной операции. Наше предположение подтверждается данными литературы: так, по мнению ряда авторов, высокий уровень опухоль-инфильтрирующих лимфоцитов ассоциирован с высокой общей выживаемостью и выживаемостью без прогрессирования [141, 142].

Весьма интересной представляется выявленная нами корреляция между высоким уровнем экспрессии PD-L1 и отсутствием экспрессии CD8 ( $p<0,05$ ). Данная взаимосвязь закономерна и объясняется тем, что молекулы PD-L1 на поверхности опухолевых клеток взаимодействуют с PD-1 рецепторами CD-8 лимфоцитов, запуская их апоптоз, поэтому высокая экспрессия PD-L1 клетками рака в итоге приводит к низкому уровню опухоль-инфильтрирующих CD-8 лимфоцитов [145].

Согласно теории раковых стволовых клеток, некоторые линии опухолевых клеток, являются клоногенными и способствуют росту злокачественной опухоли. Раковые стволовые клетки экспрессируют специфические молекулы, так называемые «маркеры стволовых клеток» [148-151]. Считается, что опухоли, богатые раковыми стволовыми клетками, более агрессивны [156]. Нами было выявлено, что большинство пациентов, 79% (n=11), с ранним прогрессированием опухоли после радикальных операций по поводу I-II стадии НМРЛ имело экспрессию маркеров стволовых клеток ALDH и CD44 в опухоли. Неблагоприятное влияние экспрессии маркеров стволовых клеток на прогноз пациентов с НМРЛ отмечено и в литературе, хотя публикации на эту тему пока немногочисленны. Так, по данным Huo W. и соавт. высокая экспрессия ALDH коррелирует с более частым лимфогенным

метастазированием и низкими показателями общей и безрецидивной выживаемости [166]. Luo Z. и др. указывают на то, что экспрессия CD44 является прогностическим фактором для НМРЛ и ассоциирована с дифференцировкой опухоли, лимфогенным метастазированием и низкими показателями выживаемости [165].

Таким образом, факторами неблагоприятного прогноза пациентов после хирургического лечения НМРЛ I-II стадии являются возраст старше 70 лет, индекс Чарльсон более 5, высокое значение SUV ( $> 6$ ) первичной опухоли при ПЭТ, повышение индекса системного воспаления и нейтрофильно-лейкоцитарного индекса. Выявленные нами тенденции в экспрессии PD-L1, CD8, ALDH и CD44 позволяют предположить, что в основе раннего прогрессирования опухоли могут лежать особенности противоопухолевого иммунитета, а также количество опухолевых стволовых клеток.

## **Выводы**

1. Общая пятилетняя выживаемость пациентов, оперированных по поводу НМРЛ легкого составила 58% при I стадии и 40% при II ( $p < 0,05$ ).
2. Повышение индекса системного воспаления и нейтрофильно-лимфоцитарного индекса сопровождается ухудшением отдаленных результатов хирургического лечения НМРЛ I-II стадии.
3. Высокое накопление РФП в проекции опухоли при ПЭТ ( $SUV > 6$ ) является фактором неблагоприятного прогноза у пациентов с НМРЛ I-II стадии.
4. У пациентов с ранним прогрессированием опухоли после радикальных операций по поводу НМРЛ I-II стадии выявлен высокий уровень экспрессии PD-L1 и экспрессия маркеров опухолевых стволовых клеток (ALDH и CD44), а также низкий уровень экспрессии опухоль-инфильтрирующих CD8-лимфоцитов.
5. Независимыми факторами неблагоприятного прогноза у больных I-II стадии НМРЛ являются возраст старше 70 лет, высокое значение индекса системного воспаления и нейтрофильно-лимфоцитарного индекса.

## Список литературы.

1. Siegel, R.L., Miller, K.D. and Jemal, A. (2020), Cancer statistics, 2020. CA A Cancer J Clin, 70: 7-30. doi:10.3322/caac.21590
2. F. Bray, J. Ferlay, I. Soerjomataram, R.L. Siegel, L.A. Torre, A. Jemal, Global cancer statistics 2018: GLOBOCAN estimates of incidence and mortality worldwide for 36 cancers in 185 countries, CA. Cancer J. Clin. 0 (2018). doi:10.3322/caac.21492.
3. Состояние онкологической помощи населению России в 2017 году / под ред. А.Д. Каприна, В.В. Старинского, Г.В. Петровой. М.: МНИОИ им. П.А. Герцена – филиал ФГБУ «НМИЦ радиологии» Минздрава России, 2018.
4. Злокачественные новообразования в России в 2016 году (заболеваемость и смертность) / под ред. А.Д. Каприна, В.В. Старинского, Г.В. Петровой. М.: МНИОИ им. П.А. Герцена – филиал ФГБУ «НМИЦ радиологии» Минздрава России, 2018.
5. Видеомедиастиноскопия и др. методы N-стадирования в хирургии рака легкого / П.К. Яблонский, А.С. Петров. - М.: ГЭОТАР-Медиа, 2015. - 160 с.
6. Левченко Е.В. Проблемы стадирования и оценки эффективности лечения НМЛР // Практическая онкология. - 2006. - Т. 7. - №. 3. - С. 138-145.
7. Лактионов К.К., Артамонова Е.В., Бредер В.В., Горбунова В.А., Моисеенко Ф.В., Реутова Е.В. и соавт. Практические рекомендации по лекарственному лечению немелкоклеточного рака легкого. Злокачественные опухоли : Практические рекомендации RUSSCO #3s2, 2019 (том 9). С. 32–48.
8. Amin MB, Edge S, Greene F, Byrd DR, Brookland RK, Washington MK, Gershenwald JE, Compton CC, Hess KR, et al. (Eds.). AJCC Cancer Staging Manual (8th edition). Springer International Publishing: American Joint Commission on Cancer; 2017 [cited 2016 Dec 28].
9. Kim D. et al. Heterogeneity of clinical N1 non-small cell lung cancer // The Thoracic and Cardiovascular Surgeon. – 2014. – Vol.62. – №2. – P. 103-108. Mordant P. et al. Prognostic factors after surgical resection of N1 non-small cell lung

cancer // European journal of surgical oncology . – 2015. Vol.41. – №5. – P. 696-701.

10. Wakefield L. M., Smith D. M., Flanders K. C. & Sporn M. B. Latent transforming growth factor-beta from human platelets. A high molecular weight complex containing precursor sequences. J Biol Chem 263, 7646–7654 (1998).

11. Woodard, G. A., Jones, K. D., & Jablons, D. M. (2016). Lung Cancer Staging and Prognosis. Lung Cancer, 47–75.doi:10.1007/978-3-319-40389-2\_3

12. Бахмутский Н.Г., Порханов В.А., Бодня В.Н., Ширяев Р.П. Прогностические факторы, влияющие на выживаемость при лечении мелкоклеточного рака легкого // Злокачественные опухоли. 2017. №Спецвыпуск 1.

13. Ахмедов Б.Б., Давыдов М.М., Федянин М.Ю., Алиев В.А., Гордеев С.С., Дадыев И.А. ФАКТОРЫ ПРОГНОЗА В ХИРУРГИЧЕСКОМ ЛЕЧЕНИИ МЕТАСТАЗОВ КОЛОРЕКТАЛЬНОГО РАКА В ЛЕГКИХ. Сибирский онкологический журнал. 2018;17(2):60-70. <https://doi.org/10.21294/1814-4861-2018-17-2-60-70>

14. Koh YW, Han JH, Naam S, Jung J. ALDH1 expression correlates with an epithelial-like phenotype and favorable prognosis in lung adenocarcinoma: a study based on immunohistochemistry and mRNA expression data. J Cancer Res Clin Oncol. 2019;145(6):1427-1436. doi:10.1007/s00432-019-02906-2

15. Shinohara S, Hanagiri T, Taira A, et al. Immunohistochemical Expression and Serum Levels of CD44 as Prognostic Indicators in Patients with Non-Small Cell Lung Cancer. Oncology. 2016;90(6):327-338. doi:10.1159/000445951

16. Şahin S, Batur Ş, Aydın Ö, Öztürk T, Turna A, Öz B. Programmed Death-Ligand-1 Expression in Non-Small Cell Lung Cancer and Prognosis. Balkan Med J. 2019;36(3):184-189. doi:10.4274/balkanmedj.galenos.2018.2018.0392

17. Ye SL, Li XY, Zhao K, Feng T. High expression of CD8 predicts favorable prognosis in patients with lung adenocarcinoma: A cohort study. Medicine (Baltimore). 2017;96(15):e6472. doi:10.1097/MD.00000000000006472

18. Chang H, Lee SJ, Lim J, Lee JS, Kim YJ, Lee WW. Prognostic significance of metabolic parameters measured by <sup>18</sup>F-FDG PET/CT in limited-stage small-cell lung carcinoma. *J Cancer Res Clin Oncol*. 2019;145(5):1361-1367.  
doi:10.1007/s00432-019-02848-9
19. Tomita M, Ayabe T, Maeda R, Nakamura K. Systemic Immune-inflammation Index Predicts Survival of Patients After Curative Resection for Non-small Cell Lung Cancer. *In Vivo*. 2018;32(3):663-667.  
doi:10.21873/invivo.11291
20. UICC (1968) TNM classification of malignant tumours. UICC, Geneva
21. Mountain CF, Carr DT, Anderson WA (1974) A system for the clinical staging of lung cancer. *Am J Roentgenol Radium Ther Nucl Med* 120(1):130–138
22. Rami-Porta R, Asamura H, Goldstraw P. Predicting the prognosis of lung cancer: the evolution of tumor, node and metastasis in the molecular age-challenges and opportunities. *Transl Lung Cancer Res*. 2015;4(4):415—423.
23. WHO Classification of Tumours of the Lung, Pleura, Thymus and Heart 2015
24. Meza R, Meernik C, Jeon J, Cote ML (2015) Lung cancer incidence trends by gender, race and histology in the United States, 1973–2010. *PLoS ONE* 10(3):e0121323
25. Carrato A<sup>1</sup>, Vergnenègre A, Thomas M et al. Clinical management patterns and treatment outcomes in patients with non-small cell lung cancer (NSCLC) across Europe: EPICLIN-Lung study. *Curr Med Res Opin*. 2014 Mar;30(3):447-61. doi: 10.1185/03007995.2013.860372. Epub 2013 Nov 18.
26. Grossi F, Loprevite M, Chiaramondia M et al (2003) Prognostic significance of K-ras, p53, bcl-2, PCNA, CD34 in radically resected non-small cell lung cancers. *Eur J Cancer (Oxford, Engl 1990)* 39(9):1242–1250
27. Hubbard MO, Fu P, Margevicius S, Dowlati A, Linden PA (2012) Five-year survival does not equal cure in non-small cell lung cancer: a surveillance, epidemiology, and end results-based analysis of variables affecting 10- to 18-year survival. *J Thorac Cardiovasc Surg* 143(6):1307–1313

28. Ou SH, Zell JA, Ziogas A, Anton-Culver H (2007) Prognostic factors for survival of stage I nonsmall cell lung cancer patients: a population-based analysis of 19,702 stage I patients in the California Cancer Registry from 1989 to 2003. *Cancer* 110(7):1532–1541
29. Kuo SW, Chen JS, Huang PM, Hsu HH, Lai HS, Lee JM (2014) Prognostic significance of histologic differentiation, carcinoembryonic antigen value, and lymphovascular invasion in stage I non-small cell lung cancer. *J Thorac Cardiovasc Surg* 148(4):1200–1207, e1203
30. Puri V<sup>1</sup>, Garg N, Engelhardt EE et al. Tumor location is not an independent prognostic factor in early stage non-small cell lung cancer. *Ann Thorac Surg*. 2010 Apr;89(4):1053-9. doi: 10.1016/j.athoracsur.2010.01.020.
31. So Young Ock, Tae Won Jang et al., Characteristics of Peripheral versus Central Lung Cancer Since 2000 *Kosin Med J*. 2014 Jun;29(1):47-52. Korean. Published online June 27, 2014. <https://doi.org/10.7180/kmj.2014.29.1.47>
32. Sun W, Yang X, Liu Y, Yuan Y, Lin D. Primary tumor location is a useful predictor for lymph node metastasis and prognosis in lung adenocarcinoma. *Clin Lung Cancer*. 2017;18(1):e49–e55.
33. Koo HJ, Xu H, Choi C-M, et al. Preoperative CT predicting recurrence of surgically resected adenocarcinoma of the lung. *Medicine*. 2016;95(2):e2513. [PMC free article] [PubMed] [Google Scholar]
34. Ito M, Yamashita Y, Miyata Y, et al. Prognostic impact of the primary tumor location based on the hilar structures in non-small cell lung cancer with mediastinal lymph node metastasis. *Lung Cancer*. 2012;76(1):93–97.
35. Charlson M. E., Pompei P., Ales K. L. et al. A new method of classifying prognostic comorbidity in longitudinal studies: development and validation // *J. Chron. Dis.* - 1987. - Vol. 40. - P 373-383.
36. Luchtenborg M, Jakobsen E, Krasnik M, Linklater KM, Mellemaard A, Moller H (2012) The effect of comorbidity on stage-specific survival in resected

- non-small cell lung cancer patients. *Eur J Cancer (Oxford, Engl 1990)* 48(18):3386–3395
37. Rosen JE, Hancock JG, Kim AW, Detterbeck FC, Boffa DJ (2014) Predictors of mortality after surgical management of lung cancer in the National Cancer Database. *Ann Thorac Surg* 98(6):1953–1960
38. D. MoroSibilot, A. Aubert, S. Diab et al., Comorbidities and Charlson score in resected stage I nonsmall cell lung cancer. *European Respiratory Journal* 2005 26: 480-486; DOI: 10.1183/09031936.05.00146004
39. Ö. Birim, A.P.W.M. Maat, A.P. Kappetein, J.P. van Meerbeeck, R.A.M. Damhuis, A.J.J.C. Bogers, Validation of the Charlson comorbidity index in patients with operated primary non-small cell lung cancer, *European Journal of Cardio-Thoracic Surgery*, Volume 23, Issue 1, January 2003, Pages 30–34, [https://doi.org/10.1016/S1010-7940\(02\)00721-2](https://doi.org/10.1016/S1010-7940(02)00721-2)
40. Siegel, R.L., Miller, K.D. and Jemal, A. (2018), *Cancer statistics, 2018*. CA: A Cancer Journal for Clinicians, 68: 7-30. doi:10.3322/caac.21442
41. Zhang, J., et al., Multicenter analysis of lung cancer patients younger than 45 years in Shanghai. *Cancer*, 2010. 116(15): p. 3656-62.
42. Hsu, C.L., et al., Advanced non-small cell lung cancer in patients aged 45 years or younger: outcomes and prognostic factors. *BMC Cancer*, 2012. 12: p. 241.
43. Subramanian, J., et al., Distinctive characteristics of non-small cell lung cancer (NSCLC) in the young: a surveillance, epidemiology, and end results (SEER) analysis. *J Thorac Oncol*, 2010. 5(1): p. 23-8.
44. Fernandes OJ, Almgren SO, Thaning L, et al. Prognostic factors for the survival of surgically treated patients for non-small cell lung cancer. *Acta Oncol* 2003;42():338–41



45. Yamamoto K, Padilla Alarcón J, Calvo Medina V, et al. Surgical results of stage I non-small cell lung cancer: comparison between elderly and younger patients. *Eur J Cardiothorac Surg* 2003;23(1):21–5.
46. Rocha, M.P., et al., Lung cancer in the young. *Cancer Detect Prev*, 1994. 18(5): p. 349-55.
47. Mauri, D., et al., Non-small cell lung cancer in the young: a retrospective analysis of diagnosis, management and outcome data. *Anticancer Res*, 2006. 26(4B): p. 3175- 81.
48. Jazieh AR, Hussain M, Howington JA, et al. Prognostic factors in patients with surgically resected stages I and II non-small cell lung cancer. *Ann Thorac Surg* 2000;70(4):1168–71.
49. Mery CM, Pappas AN, Bueno R, et al. Similar long-term survival of elderly patients with non-small cell lung cancer treated with lobectomy or wedge resection within the surveillance, epidemiology, and end results database. *Chest* 2005;128(1):237–45.
50. Radzidowska, E., et al. Lung cancer in patients under 50 years old. *Lung Cancer*, 2001. 33(2): p. 203-11.
51. Ramalingam, S., et al. Lung cancer in young patients: analysis of a Surveillance, Epidemiology, and End Results database. *J Clin Oncol*. 1998. 16(2) 651-7.
52. Lara, M. S., Brunson, A., Wun, T., Tomlinson, B., Qi, L., Cress, R. D., Gandara, D. R., & Kelly, K. (2014). Predictors of survival for younger patients less than 50 years of age with non-small cell lung cancer (NSCLC): A California Cancer Registry analysis. *Lung Cancer*, 85(2), 264-269. <https://doi.org/10.1016/j.lungcan.2014.04.007>
53. Radkiewicz C, Dickman PW, Johansson ALV, Wagenius G, Edgren G, Lambe M (2019) Sex and survival in non-small cell lung cancer: A nationwide

- cohort study. PLoS ONE 14(6): e0219206.  
<https://doi.org/10.1371/journal.pone.0219206>
54. Marugame, T., et al., Trends in lung cancer mortality among young adults in Japan. *Jpn J Clin Oncol*, 2005. 35(4): p. 177-80.
55. Ramalingam, S., et al. Lung cancer in young patients: analysis of a Surveillance, Epidemiology, and End Results database. *J Clin Oncol*. 1998. 16(2) 651-7.
56. Jazieh AR, Hussain M, Howington JA, et al. Prognostic factors in patients with surgically resected stages I and II non-small cell lung cancer. *Ann Thorac Surg* 2000;70(4):1168–71.
57. Caldarella A, Crocetti E, Comin CE, Janni A, Pegna AL, Paci E. Gender differences in non-small cell lung cancer: a population-based study. *Eur J Surg Oncol* 2007;33(6):763–8.
58. Chang JW, Asamura H, Kawachi R, Watanabe S. Gender difference in survival of resected non-small cell lung cancer: histology-related phenomenon? *J Thorac Cardiovasc Surg* 2009;137(4):807–
59. Pitz MW, Musto G, Navaratnam S. Sex as an independent prognostic factor in a population-based non-small cell lung cancer cohort. *Can Respir J*. 2013;20(1):30-34. doi:10.1155/2013/618691
60. Fu JB, Kau TY, Severson RK, Kalemkerian GP. Lung cancer in women: analysis of the national surveillance, epidemiology, and end results database. *Chest* 2005;127(3):768–77.
61. Cerfolio RJ, Bryant AS, Scott E, Sharma M, Robert F, Spencer SA, Garver RI. Women with pathologic stage I, II, and III non-small cell lung cancer have better survival than men. *Chest* 2006;130(6):1796–802.
62. Galon J. et al. Cancer classification using the immunoscore: a worldwide task force // *Journal of Translation Medicine*. – 2012. – Vol. 17. – №36. P.1-9.

63. Gunaldi M. et al. Prognostic impact of platelet/lymphocyte and neutrophil/lymphocyte ratios in patients with gastric cancer: a multicenter study // *Int J ClinExp Med.* – 2015. – Vol. 8. - №4. 5937-5942.
64. De Larco JE, Wuertz BR, Furcht LT. The potential role of neutrophils in promoting the metastatic phenotype of tumors releasing interleukin-8. *Clin Cancer Res* 2004; 10: 4895–900.
65. Kusumanto YH, Dam WA, Hospers GA, Meijer C, Mulder NH. Platelets and granulocytes, in particular the neutrophils, form important compartments for circulating vascular endothelial growth factor. *Angiogenesis* 2003;6: 283–7.
66. A. Mantovani, P. Allavena, A. Sica, F. Balkwill, Cancer-related inflammation, *Nature* 454 (2008) 436–444.
67. C. Ferrone, G. Dranoff, Dual roles for immunity in gastrointestinal cancers, *J. Clin. Oncol.* 28 (2010) 4045–4051.
68. Pinato DJ, Shiner RJ, Seckl MJ, Stebbing J, Sharma R, Mauri FA. Prognostic performance of inflammation-based prognostic indices in primary operable non-small cell lung cancer. *Br J Cancer.* 2014;110(8):1930–5.
69. Zhang, H., Xia, H., Zhang, L., Zhang, B., Yue, D., & Wang, C. (2015). Clinical significance of preoperative neutrophil-lymphocyte vs platelet-lymphocyte ratio in primary operable patients with non-small cell lung cancer. *American Journal of Surgery*, 210(3), 526-535. <https://doi.org/10.1016/j.amjsurg.2015.03.022>
70. Takahashi Y, Horio H, Hato T, Harada M, Matsutani N, Morita S, et al. Prognostic significance of preoperative neutrophil-lymphocyte ratios in patients with stage I non-small cell lung Cancer after complete resection. *Ann Surg Oncol.* 2015;22(Suppl 3):1324–31.

71. Shimizu K, Okita R, Saisho S, Maeda A, Nojima Y, Nakata M. Preoperative neutrophil/lymphocyte ratio and prognostic nutritional index predict survival in patients with non-small cell lung cancer. *World J Surg Oncol*. 2015;13:291.
72. Zhao QT, Yang Y, Xu S, Zhang XP, Wang HE, Zhang H, et al. Prognostic role of neutrophil to lymphocyte ratio in lung cancers: a meta-analysis including 7,054 patients. *Onco Targets Ther*. 2015;8:2731–8.
73. Gu XB, Tian T, Tian XJ, Zhang XJ. Prognostic significance of neutrophil-to-lymphocyte ratio in non-small cell lung cancer: a meta-analysis. *Sci Rep*. 2015;5:12493.
74. Mizuguchi S. et al. Neutrophil-lymphocyte ratio predicts recurrence in patients with resected stage 1 non-small cell lung cancer // *Journal of Cardiothoracic Surgery*. – 2018. –Vol. 13. - №78. – P.1-7.
75. Schumacher D, Strilic B, Sivaraj KK, Wettschureck N and Offermanns S. Platelet-derived nucleotides promote tumor-cell transendothelial migration and metastasis via P2Y2 receptor. *Cancer Cell* 2013; 24: 130–137.
76. B.Z. Stanger, M.L. Kahn, Platelets and tumor cells: a new form of border control, *Cancer Cell* 24 (2013) 9–11.
77. Nieswandt B, Hafner M, Echtenacher B and Mannel DN. Lysis of tumor cells by natural killer cells in mice is impeded by platelets. *Cancer Res* 1999; 59: 1295–1300.
78. Barrientos S, Stojadinovic O, Golinko MS, Brem H and Tomic-Canic M. Growth factors and cytokines in wound healing. *Wound Repair Regen* 2008; 16: 585–601.
79. Banks R. E. et al. Release of the angiogenic cytokine vascular endothelial growth factor (VEGF) from platelets: significance for VEGF measurements and cancer biology. *Br J Cancer* 77, 956–964 (1998).
80. Senzel L., Gnatenko D. V. & Bahou W. F. The platelet proteome. *Curr Opin Hematol* 16, 329–333 (2009).

81. Shan C., Xia C., Ya Y., Wang J. & Su X. Effects of preoperative blood platelet-to-lymphocyte ratio on prognosis of non-small cell lung cancer patients after surgical resection. *Chinese Journal of Clinical Oncology* 21, 1374–1378 (2014)
82. Zhang T. et al. Evaluation of preoperative hematologic markers as prognostic factors and establishment of novel risk stratification in resected pN0 non-small cell lung cancer. *PLoS One* 9, e111494 (2014).
83. Miyazaki T. et al. Inflammation-based scoring is a useful prognostic predictor of pulmonary resection for elderly patients with clinical stage I non-small-cell lung cancer. *Eur J Cardiothorac Surg* 47, e140–145 (2015).
84. Cannon N. A. et al. Neutrophil-lymphocyte and platelet-lymphocyte ratios as prognostic factors after stereotactic radiation therapy for early-stage non-small-cell lung cancer. *J Thorac Oncol* 10, 280–285 (2015).
85. Zhang H, Gao L, Zhang B, Zhang L, Wang C. Prognostic value of platelet to lymphocyte ratio in non-small cell lung cancer: a systematic review and meta-analysis. *Sci Rep*. 2016;6:22618. Published 2016 Mar 4. doi:10.1038/srep22618
86. Chen H, Xue H, Liu W, Wu F, Wang Y, Gao H. *Zhongguo Fei Ai Za Zhi*. 2019;22(5):289-298. doi:10.3779/j.issn.1009-3419.2019.05.0
87. LiaoC,YuZ,GuoW,LiuQ,WuY,LiYandBaiL:Prognostic value of circulating inflammatory factors in non-small cell lung cancer: a systematic review and meta-analysis. *Cancer Biomark* 14: 469-481, 2014.
88. Wu G, Yao Y, Bai C et al. Combination of platelet to lymphocyte ratio and neutrophil to lymphocyte ratio is a useful prognostic factor in advanced non-small cell lung cancer patients. *Thoracic Cancer* 2015; 6: 275–87.
89. Takeuchi H, Kawanaka H, Fukuyama S, Kubo N, Hiroshige S, Yano T. Comparison of the prognostic values of preoperative inflammation-based parameters in patients with breast cancer. *PLoS One* 2017; 12: e0177137.

90. Guo J, Chen S, Chen Y, Li S, Xu D. Combination of CRP and NLR: A better predictor of postoperative survival in patients with gastric cancer. *Cancer Manage Res* 2018; 10: 315–21.
91. Guo W, Cai S, Zhang F, et al. Systemic immune-inflammation index (SII) is useful to predict survival outcomes in patients with surgically resected non-small cell lung cancer. *Thorac Cancer*. 2019;10(4):761-768. doi:10.1111/1759-7714.12995
92. Tomita M, Ayabe T, Maeda R, Nakamura K. Systemic Immune-inflammation Index Predicts Survival of Patients After Curative Resection for Non-small Cell Lung Cancer. *In Vivo*. 2018;32(3):663-667. doi:10.21873/invivo.11291
93. Wang Y, Li Y, Chen P, Xu W, Wu Y, Che G. Prognostic value of the pretreatment systemic immune-inflammation index (SII) in patients with non-small cell lung cancer: a meta-analysis. *Ann Transl Med*. 2019;7(18):433. doi:10.21037/atm.2019.08.116
94. Hicks RJ, Kalff V, MacManus MP, Ware RE, Hogg A, McKenzie AF, et al. (18) F-FDG PET provides high-impact and powerful prognostic stratification in staging newly diagnosed non-small cell lung cancer. *J Nucl Med*. 2001;42:1596–1604.
95. Ryu JS, Choi NC, Fischman AJ, Lynch TJ, Mathisen DJ. FDG-PET in staging and restaging non-small cell lung cancer after neoadjuvant chemoradiotherapy: correlation with histopathology. *Lung Cancer*. 2002;35:179–187. doi: 10.1016/S0169-5002(01)00332-4.
96. Hoekstra CJ, Stroobants SG, Hoekstra OS, Vansteenkiste J, Biesma B, Schramel FJ, et al. The value of [18F] fluoro-2-deoxy-D-glucose positron emission tomography in the selection of patients with stage IIIA-N2 non-small cell lung cancer for combined modality treatment. *Lung Cancer*. 2003;39:151–157. doi: 10.1016/S0169-5002(02)00446-4.
97. Nestle U, Kremp S, Grosu AL. Practical integration of [18F]-FDG-PET and PET-CT in the planning of radiotherapy for non-small cell lung cancer (NSCLC):

- the technical basis, ICRU-target volumes, problems, perspectives. *Radiother Oncol.* 2006;81:209–225. doi: 10.1016/j.radonc.2006.09.011.
98. Kumasaka S, Nakajima T, Arisaka Y, et al. Prognostic value of metabolic tumor volume of pretreatment <sup>18</sup>F-FAMT PET/CT in non-small cell lung Cancer. *BMC Med Imaging.* 2018;18(1):46. Published 2018 Nov 26. doi:10.1186/s12880-018-0292-2
  99. C. Doms, A. van Baardwijk, E. Verbeken, R.J. van Suylen, S. Stroobants, D. Ruyscher et al., Association between <sup>18</sup>F-fluoro-2-deoxy-D-glucose uptake values and tumor vitality: Prognostic value of positron emission tomography in early-stage non-small cell lung cancer, *J. Thorac. Oncol.* 4 (2009), 822–828.
  100. Hughes, N.M., Mou, T., O'Regan, K.N. et al. Tumor heterogeneity measurement using [<sup>18</sup>F] FDG PET/CT shows prognostic value in patients with non-small cell lung cancer. *European J Hybrid Imaging* 2, 25 (2018). <https://doi.org/10.1186/s41824-018-0043-1>
  101. Lopez Guerra JL, Gladish G, Komaki R, Gomez D, Zhuang Y, Liao Z. Large decreases in standardized uptake values after definitive radiation are associated with better survival of patients with locally advanced non-small cell lung cancer. *J Nucl Med.* 2012;53:225–233. [PubMed] [Google Scholar]
  102. Zhang X, Liu H, Balter P, et al. Positron emission tomography for assessing local failure after stereotactic body radiotherapy for non-small-cell lung cancer. *Int J Radiat Oncol Biol Phys.* 2012;83:1558–1565.
  103. Yoo IeR, Chung SK, Park HL, et al. Prognostic value of SUVmax and metabolic tumor volume on <sup>18</sup>F-FDG PET/CT in early stage non-small cell lung cancer patients without LN metastasis. *Biomed Mater Eng.* 2014;24(6):3091-3103. doi:10.3233/BME-141131
  104. J.F. Vansteenkiste, S.G. Stroobants, P.J. Dupont, P.R. De Leyn, E.K. Verbeken, G.J. Deneffe et al., Prognostic importance of the standardized uptake value on <sup>18</sup>F-fluoro-2-deoxy-glucose-positron emission tomography scan in non-small-cell lung cancer: An analysis of 125 cases, *J. Clin. Oncol.* 17 (1999), 3201–3206.

105. Nguyen XC, So Y, Chung JH, Lee WW, Park SY, Kim SE. High correlations between primary tumours and loco- regional metastatic lymph nodes in non-small-cell lung cancer with respect to glucose transporter type 1-mediated 2-deoxy-2-F18-fluoro-D-glucose uptake. *Eur J Cancer*. 2008; 44:692-698.
106. Greenwald RJ, Freeman GJ, Sharpe AH. The B7 family revisited. *Annu Rev Immunol*. 2005;23:515–548. doi: 10.1146/annurev.immunol.23.021704.115611.
107. Keir ME, Butte MJ, Freeman GJ, Sharpe AH. PD-1 and its ligands in tolerance and immunity. *Annu Rev Immunol*. 2008;26:677–704. doi: 10.1146/annurev.immunol.26.021607.090331.
108. Haworth KB, Leddon JL, Chen CY, et al. Going back to class I: MHC and immunotherapies for childhood cancer. *Pediatr Blood Cancer*. 2015;62(4):571–576. doi: 10.1002/pbc.25359.
109. Elinav E, Nowarski R, Thaiss CA, et al. Inflammation- induced cancer: crosstalk between tumours, immune cells and microorganisms. *Nat Rev Cancer*. 2013;13(11):759–771. doi: 10.1038/nrc3611.
110. Topalian SL, Drake CG, Pardoll DM. Targeting the PD-1/B7-H1(PD-L1) pathway to activate anti-tumor immunity. *Curr Opin Immunol*. 2012;24(2):207–212. doi: 10.1016/j.coi.2011.12.009.
111. Liu J, Hamrouni A, Wolowiec D, et al. Plasma cells from multiple myeloma patients express B7-H1 (PD-L1) and increase expression after stimulation with IFN-gamma and TLR ligands via a MyD88-, TRAF6-, and MEK-dependent pathway. *Blood*. 2007;110(1):296– 304. doi:10.1182/blood-2006-10-051482.
112. Thompson RH, Kwon ED. Significance of B7-H1 overexpression in kidney cancer. *Clin Genitourin Cancer*. 2006;5(3):206–211. doi: 10.3816/CGC.2006.n.038.
113. Lyford-Pike S, Peng S, Young GD, et al. Evidence for a role of the PD-1: PD-L1 pathway in immune resistance of HPV-associated head and neck squamous cell carcinoma. *Cancer Res*. 2013;73(6):1733–1741. doi: 10.1158/0008-5472.CAN-12-2384.



114. Mao Y, Li W, Chen K, et al. B7-H1 and B7-H3 are independent predictors of poor prognosis in patients with non-small cell lung cancer. *Oncotarget*. 2015;6(5):3452–3461. doi: 10.18632/oncotarget.3097.
115. Barber DL, Wherry EJ, Masopust D, et al. Restoring function in exhausted CD8 T-cells during chronic viral infection. *Nature*. 2006;439(7077):682–687. doi: 10.1038/nature04444.
116. Shen JK, Cote GM, Choy E, et al. Programmed cell death ligand 1 expression in osteosarcoma. *Cancer Immunol Res*. 2014;2(7):690–698. doi: 10.1158/2326-6066.CIR-13-0224.
117. Dong H, Strome SE, Salomao DR, et al. Tumor-associated B7-H1 promotes T-cell apoptosis: a potential mechanism of immune evasion. *Nat Med*. 2002;8(8):793–800. doi: 10.1038/nm730.
118. Pardoll DM. The blockade of immune checkpoints in cancer immunotherapy. *Nat Rev Cancer* 2012;12:252-64.
119. Gandhi L, Rodriguez-Abreu D, Gadgeel S et al. Pembrolizumab plus chemotherapy in metastatic non-small-cell lung cancer. *N Engl J Med* 2018; 378: 2078–2092.
120. Gennen, K., Käsmann, L., Taugner, J. et al. Prognostic value of PD-L1 expression on tumor cells combined with CD8+ TIL density in patients with locally advanced non-small cell lung cancer treated with concurrent chemoradiotherapy. *Radiat Oncol* 15, 5 (2020). <https://doi.org/10.1186/s13014-019-1453-3>
121. Edlund K., Madjar K., Mattsson J. S.M. et al, Prognostic Impact of Tumor Cell Programmed Death Ligand 1 Expression and Immune Cell Infiltration in NSCLC. 2019-04 <https://doi.org/10.1016/J.JTHO.2018.12.022>
122. Antagonist antibodies to PD-1 and B7-H1 (PD-L1) in the treatment of advanced human cancer. Sznol M, Chen L *Clin Cancer Res*. 2013 Mar 1; 19(5):1021-34
123. Mori H, Kubo M, Yamaguchi R, Nishimura R, Osako T, Arima N. et al. The combination of PD-L1 expression and decreased tumor-infiltrating lymphocytes is

associated with a poor prognosis in triple-negative breast cancer. *Oncotarget*. 2017;8:15584–92.

124. Aguiar PN Jr, De Mello RA, Hall P, Tadokoro H, Lima Lopes G. PD-L1 expression as a predictive biomarker in advanced non-small-cell lung cancer: updated survival data. *Immunotherapy*. 2017;9:499–506.

125. Kawazoe A, Kuwata T, Kuboki Y, Shitara K, Nagatsuma AK, Aizawa M. et al. Clinicopathological features of programmed death ligand 1 expression with tumor-infiltrating lymphocyte, mismatch repair, and Epstein-Barr virus status in a large cohort of gastric cancer patients. *Gastric cancer*. 2017;20:407–15.

126. Lee KS, Kwak Y, Ahn S, Shin E, Oh HK, Kim DW. et al. Prognostic implication of CD274 (PD-L1) protein expression in tumor-infiltrating immune cells for microsatellite unstable and stable colorectal cancer. *Cancer Immunol Immunother*. 2017;66:927–39.

127. Zhu J, Wen H, Ju X, Bi R, Zuo W, Wu X. Clinical Significance of Programmed Death Ligand1 and Intra-Tumoral CD8+ T Lymphocytes in Ovarian Carcinosarcoma. *PloS one*. 2017;12:e0170879.

128. Chen YB, Mu CY, Huang JA. Clinical significance of programmed death-1 ligand-1 expression in patients with non-small cell lung cancer: a 5-year-follow-up study. *Tumori*. 2012;98(6):751–755.

129. Zhang Y, Wang L, Li Y, et al. Protein expression of programmed death 1 ligand 1 and ligand 2 independently predict poor prognosis in surgically resected lung adenocarcinoma. *Onco Targets Ther*. 2014;7:567–573.

130. Velcheti V, Schalper KA, Carvajal DE, et al. Programmed death ligand-1 expression in non-small cell lung cancer. *Lab Invest*. 2014;94(1):107–116.

131. Кутукова С.И., Беляк Н.М., Раскин Г.А., Манихас Г.М. и др. Системное воспаление и иммунологическое микроокружение в прогнозе течения солидных опухолей // Злокачественные опухоли. – 2019. - №1. – С. 29-

132. Стенина Марина Борисовна, Царева Е.В., Жаров А.А., Тюляндин С.А. Инфильтрирующие опухоль лимфоциты: биологическая суть и клиническое

значение при раке молочной железы // Российский онкологический журнал. 2016. №1-2.

133. Gu-Trantien C., Loi S., Garaud S. et al. CD4(+) follicular helper T cell infiltration predicts breast cancer survival. *J. Clin. Invest.* 2013; 123 (7): 2873–92.

134. Enrico Ruffini, Sofia Ascoli, et al., Clinical Significance of Tumor-Infiltrating Lymphocytes in Lung Neoplasms. *Ann Thorac Surg* 2009;87:365–72

135. Fridman WH, Pages F, Sautes-Fridman C, Galon J. The immune contexture in human tumours: impact on clinical outcome. *Nat Rev Cancer* 2012;12:298-306.

136. Nakakubo Y., Miyamoto M., Cho Y. et al. Clinical significance of immune cell infiltration within gallbladder cancer. *Br. J. Cancer.* 2003; 89: 1736–42.

137. Tomsova M., Melichar B., Sedlakova I., Steiner I. Prognostic significance of CD3+ tumor-infiltrating lymphocytes in ovarian carcinoma. *Gynecol. Oncol.* 2008; 108: 415–20.

138. Yamagami W., Susumu N., Tanaka H. et al. Immunofluorescence-detected infiltration of CD4+FOXP3+ regulatory T cells is relevant to the prognosis of patients with endometrial cancer. *Int. J. Gynecol. Cancer.* 2011; 21: 1628–34.

139. Naito Y., Saito K., Shiiba K. et al. CD8+ T cells infiltrated within cancer cell nests as a prognostic factor in human colorectal cancer. *Cancer Res.* 1998; 58 (16): 3491–4.

140. Kikuchi E, Yamazaki K, Torigoe T, Cho Y et al., HLA class I antigen expression is associated with a favorable prognosis in early stage non-small cell lung cancer. *Cancer Sci.* 2007 Sep; 98(9):1424-30.

141. Donnem T, Hald SM, Paulsen E-E, Richardsen E, Al-Saad S, Kilvaer TK, et al. Stromal CD8+ T Cell Density-A Promising Supplement to TNM staging in Non-Small Cell Lung Cancer. *Clinical Cancer Research.* 2015:clincanres. 1905.2014.

142. Tian C, Lu S, Fan Q, Zhang W, Jiao S, Zhao X, et al. Prognostic Significance of Tumor-infiltrating CD8+ or CD3+ T Lymphocytes and Interleukin-2 Expression in Radically Resected Non-small Cell Lung Cancer. *Chinese medical journal.* 2015;128(1):105 10.4103/0366-6999.147828

143. Donnem TP, Hald SM, Paulsen EE, Richardsen E, Al-Saad S, Kilvaer TK, Brustugun OT, Helland AP, Lund-Iversen M, Poehl M, Olsen KE, Ditzel HJ, Hansen O, Al-Shibli KI, Kiselev Y, Sandanger TM, et al. Stromal CD8+ T Cell Density - A Promising Supplement to TNM staging in Non-Small Cell Lung Cancer. *Clin Cancer Res.* 2015;21:2635–43.
144. Kawai O, Ishii G, Kubota K, Murata Y, Naito Y, Mizuno T, et al. Predominant infiltration of macrophages and CD8(+) T Cells in cancer nests is a significant predictor of survival in stage IV nonsmall cell lung cancer. *Cancer.* 2008;113(6):1387–95. Epub 2008/08/02. 10.1002/cncr.23712
145. Jin Y, Shen X, Pan Y, et al. Correlation between PD-L1 expression and clinicopathological characteristics of non-small cell lung cancer: A real-world study of a large Chinese cohort. *J Thorac Dis.* 2019;11(11):4591-4601. doi:10.21037/jtd.2019.10.80
146. Mao Y, Li W, Chen K, et al. B7-H1 and B7-H3 are independent predictors of poor prognosis in patients with non-small cell lung cancer. *Oncotarget.* 2015;6(5):3452–3461.
147. Clarke MF, Dick JE, Dirks PB et al. Cancer stem cells- perspectives on current status and future directions: AACR Workshop on cancer stem cells. *Cancer Res* 2006; 66: 9339– 44.
148. Rapp UR, Ceteci F, Schreck R. Oncogene-induced plasticity and cancer stem cells. *Cell Cycle* 2008; 7: 45–51.
149. Suetsugu A, Nagaki M, Aoki H, Motohashi T, Kunisada T, Mori- waki H. (2006). Characterization of CD133+ hepatocellular carcinoma cells as cancer stem/progenitor cells. *Biochem Biophys Res Commun* 2006; 351: 820–4.
150. Eramo A, Lotti F, Sette G et al. Identification and expansion of the tumorigenic lung cancer stem cell population. *Cell Death Differ* 2008; 15: 504–14.
151. Marhaba R, Klingbeil P, Nuebel T, Nazarenko I, Buechler MW, Zoeller M. CD44 and EpCAM: Cancer-initiating cell markers. *Curr Mol Med* 2008; 8: 784–804.

152. Jiang F, Qiu Q, Khanna A et al. Aldehyde dehydrogenase 1 is a tumor stem cell-associated marker in lung cancer. *Mol Cancer Res* 2009; 7: 330–8.
153. Klonisch T, Wiechec E, Hombach-Klonisch S et al. Cancer stem cell markers in common cancers—therapeutic implications. *Trends Mol Med* 2008; 14: 450–60.
154. Visvader JE, Lindeman GJ. Cancer stem cells in solid tumors: Accumulating evidence and unresolved questions. *Nat Rev Cancer* 2008; 8: 755–68.
155. Woo T, Okudela K, Mitsui H et al. Prognostic value of CD133 expression in stage I lung adenocarcinomas. *Int J Clin Exp Pathol* 2010; 4: 32–42.
156. Титов К.С., Оганесян А.П., Ротин Д.Л., Рябчиков Д.А., Лепкова Н.В. Опухолевые стволовые клетки при раке молочной железы. Роль в патогенезе и подходы к терапии. Злокачественные опухоли. 2016;(2):2227. <https://doi.org/10.18027/2224-5057-2016-2-22-27>
157. Human aldehyde dehydrogenase gene family. Yoshida A, Rzhetsky A, Hsu LC, Chang C *Eur J Biochem.* 1998 Feb 1; 251(3):549-57.
158. Measurement of aldehyde dehydrogenase 1 expression defines a group with better prognosis in patients with non-small cell lung cancer. Dimou A, Neumeister V, Agarwal S, Anagnostou V, Syrigos K, Rimm DL *Am J Pathol.* 2012 Oct; 181(4):1436-42.
159. Aldehyde dehydrogenase activity selects for lung adenocarcinoma stem cells dependent on notch signaling. Sullivan JP, Spinola M, Dodge M, Raso MG, Behrens C, Gao B, Schuster K, Shao C, Larsen JE, Sullivan LA, Honorio S, Xie Y, Scaglioni PP, DiMaio JM, Gazdar AF, Shay JW, Wistuba II, Minna JD *Cancer Res.* 2010 Dec 1; 70(23):9937-48.
160. Regulation of alternative splicing of CD44 in cancer. Prochazka L, Tesarik R, Turanek J *Cell Signal.* 2014 Oct; 26(10):2234-9.
161. CD44: structure, function, and association with the malignant process. Naor D, Sionov RV, Ish-Shalom D *Adv Cancer Res.* 1997; 71():241-319.
162. Xu H, Tian Y, Yuan X, Liu Y, Wu H, Liu Q, Wu GS, Wu K. Enrichment of CD44 in basal-type breast cancer correlates with EMT, cancer stem cell gene profile, and prognosis. *Onco Targets Ther.* 2016;9:431–444.

163. Fang M, Wu J, Lai X, Ai H, Tao Y, Zhu B, Huang L. CD44 and CD44v6 are correlated with gastric cancer progression and poor patient prognosis: Evidence from 42 studies. *Cell Physiol Biochem*. 2016;40:567–578. doi: 10.1159/000452570.
164. Sosulski A, Horn H, Zhang L, Coletti C, Vathipadiekal V, Castro CM, Birrer MJ, Nagano O, Saya H, Lage K, et al. CD44 splice variant v8-10 as a marker of serous ovarian cancer prognosis. *PLoS One*. 2016;11:e0156595. doi: 10.1371/journal.pone.0156595.
165. Luo Z, Wu RR, Lv L, et al. Prognostic value of CD44 expression in non-small cell lung cancer: a systematic review. *Int J Clin Exp Pathol*. 2014;7(7):3632–3646. Published 2014 Jun 15.
166. Huo W, Du M, Pan X, Zhu X, Li Z. Prognostic value of ALDH1 expression in lung cancer: a meta-analysis. *Int J Clin Exp Med*. 2015;8(2):2045–2051. Published 2015 Feb 15